



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
PROGRAMA DE DOUTORADO INTEGRADO EM ZOOTECNIA

ADITIVOS ENZIMÁTICOS NA DIETA DE TILÁPIAS DO NILO E PEIXE
ORNAMENTAL

VERUSKA DILYANNE SILVA GOMES
Zootecnista

AREIA /PB
2018

Veruska Dilyanne Silva Gomes

**ADITIVOS ENZIMÁTICOS NA DIETA DE TILÁPIAS DO NILO E PEIXE
ORNAMENTAL**

Tese Apresentada ao Programa de Doutorado Integrado em Zootecnia, da Universidade Federal da Paraíba, do qual participam a Universidade Federal Rural de Pernambuco e Universidade Federal do Ceará, como requisito para obtenção do título de Doutora em Zootecnia.

Comitê de Orientação:

Prof. Dr. José Humberto Vilar da Silva – Orientador Principal (CCA/UFPB)

Prof. Dra. Patrícia Emília Naves Givisiez (CCA/UFPB)

Prof. Dr. Fernando Guilherme Perazzo (CCA/UFPB)

Areia/PB

2018

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

G633a Gomes, Veruska Dilyanne Silva.

ADITIVOS ENZIMÁTICOS NA DIETA DE TILÁPIAS DO NILO E
PEIXE ORNAMENTAL / Veruska Dilyanne Silva Gomes. -
Areia, 2018.

100 f. : il.

Orientação: José Humberto Vilar da Silva.

Coorientação: Patrícia Emília Naves Givisiez, Fernando
Guilherme Perazzo.

Tese (Doutorado) - UFPB/CCA.

1. Enzimas digestivas. 2. Guppys. 3. Nutrição de
peixes. I. Silva, José Humberto Vilar da. II. Givisiez,
Patrícia Emília Naves. III. Perazzo, Fernando
Guilherme. IV. Título.

UFPB/CCA-AREIA



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

PARECER DE DEFESA DO TRABALHO DE TESE

TÍTULO: “Aditivos Enzimáticos para Tilápias do Nilo e Peixe Ornamental”

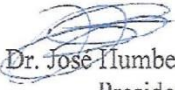
AUTOR: Veruska Dilyanne Silva Gomes

ORIENTADOR: Prof. Dr. José Humberto Vilar da Silva

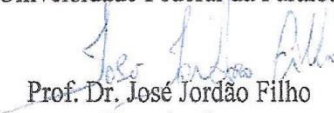
JULGAMENTO

CONCEITO: APROVADO


EXAMINADORES:


Prof. Dr. José Humberto Vilar da Silva
Presidente

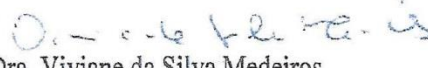
Universidade Federal da Paraíba


Prof. Dr. José Jordão Filho
Examinador


Universidade Federal da Paraíba


Prof.ª Dra. Alda Lúcia de Lima Amâncio
Examinadora

Universidade Federal da Paraíba


Prof.ª Dra. Viviane da Silva Medeiros
Examinadora

Universidade Federal do Rio Grande do Norte


Prof. Dr. Francisco Gláucio de Araújo Santos
Examinador

Universidade Federal do Acre

Areia, 28 de fevereiro de 2018

BIOGRAFIA DA AUTORA

Veruska Dilyanne Silva Gomes – filha de José de Arimatéia Gomes e Vera Lúcia Silva Gomes, nasceu em Natal – Rio Grande do Norte, no dia 03 de Maio de 1989. Graduiu-se em Zootecnia pela Universidade Federal do Rio Grande do Norte, no ano de 2011. Em 2014 concluiu o Mestrado em Zootecnia pelo Programa de Pós-Graduação em Zootecnia da Universidade Federal da Paraíba. Em Fevereiro de 2018, submeteu-se à defesa de tese para obtenção do título de Doutora em Zootecnia pelo programa de Doutorado Integrado em Zootecnia.

DEDICO

Aos meus pais Arimatéia Gomes e Vera Gomes pelo amor e incentivo.

À Cácio Ribeiro pela presença constante e apoio incondicional.

“Cada livro, cada volume que você vê, tem alma. A alma de quem o escreveu e a alma dos que o leram, que viveram e sonharam com ele. Cada vez que um livro troca de mãos, cada vez que alguém passa os olhos pelas suas páginas, seu espírito se expande e a pessoa se fortalece.”

(Carlos Ruiz Zafón – Extraído do livro A sombra do vento).

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais pela vida, apoio e amor.

Ao meu noivo Cácio Ribeiro pela presença constante, companheirismo, por me ajudar a superar dificuldades, pelo amor, paciência, apoio acadêmico e por me incentivar a seguir em frente.

Ao professor orientador José Humberto Vilar, pelo exemplo de profissional dedicado a ciência, pela disponibilidade em me ouvir, orientação e por acreditar em mim tornando possível a realização deste projeto.

Aos professores José Jordão, Alda Amâncio, Francisco Glauco e Viviane Medeiros pelo apoio, disponibilidade, ensinamentos, incentivo, amizade e generosidade em transmitir seus conhecimentos.

À Universidade Federal da Paraíba, em especial ao Programa de Doutorado Integrado em Zootecnia - PDIZ e ao Centro de Ciências Humanas, Sociais e Agrárias – CCHSA.

A Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

As empresas DSM[®] e a Guaraves-Aquavita[®] pela parceria.

A minha irmã Valéria Gomes e toda minha família pelas energias positivas, orações e votos de sucesso profissional.

Aos meus amigos e colegas de trabalho que formaram a “equipe multidisciplinar”: Cácio Ribeiro, Jorge Almeida, Alex Pinto, Manuel Neto, Mário Cesar, Felipe Bonifácio, Janiele Silva, Carmelita Érica e Ana Paula, por todo apoio na realização do nosso trabalho.

Aos grupos de pesquisa GENp e NEPaves.

Aos funcionários e amigos do Laboratório de Aquicultura da Universidade Federal da Paraíba, José Bezerra (Zezinho), Josivaldo Santos (Doda), Jorge Laurindo (Sil), Pedro Soares e Severino pelo apoio durante a execução deste projeto. Ao senhor Nivaldo, funcionário da fábrica de ração, ao senhor Sabiá, ao senhor Gilberto e ao senhor Antônio do Laboratório de Ranicultura.

Aos amigos que conheci durante este período na Paraíba e pelos quais tenho grande carinho.

A todos que contribuíram de maneira direta ou indireta para a realização deste trabalho.

Meus sinceros agradecimentos!

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS	xi
LISTA DE FIGURAS	xiv
RESUMO GERAL	xv
GENERAL SUMMARY	xvii
 CONSIDERAÇÕES INICIAIS	 19
 CAPÍTULO I – REFERENCIAL TEÓRICO	 21
1. Enzimas digestivas em peixes.....	22
2. Produção de aditivos enzimáticos.....	26
3.Resultados da utilização de aditivos enzimáticos em rações para peixes de interesse comercial.....	29
4.Referencias.....	33
 CAPÍTULO II – <i>BLEND</i> DE ENZIMAS DIGESTIVAS SOBRE CRESCIMENTO E COMPOSIÇÃO CORPORAL DE JUVENIS DE TILÁPIA DO NILO.....	 39
Resumo	40
Abstract	41
1 Introdução	42
2 Material e métodos	43
3 Resultados e discussão	46
4 Conclusões	52
5 Referências	53
 CAPITULO III – NÍVEIS DE GLICOSE SANGUÍNEA E TAXA DE EXCREÇÃO DE AMÔNIA COMO METABÓLITOS INDICADORES DA ATIVIDADE DE ENZIMAS EXÓGENAS NA DIETA DE TILÁPIAS DO NILO.....	 56
Resumo	57
Abstract	58

1 Introdução	59
2 Material e métodos	60
3 Resultados e discussão	64
4 Conclusão	72
5 Referências	72

CAPITULO IV – VALORIZAÇÃO DE DIETAS COM PROTEASE, FITASE E ALFA-AMILASE PARA TILÁPIAS DO NILO EM TEMPERATURA SUB-ÓTIMA.....74

Resumo	75
Abstract	76
1 Introdução	77
2 Material e métodos	78
3 Resultados e discussão	81
4 Conclusão.....	86
5 Referências	86

CAPITULO V – ENZIMAS EXÓGENAS NA ALIMENTAÇÃO DO PEIXE GUPPY (*Poecilia reticulata*).....89

Resumo	90
Abstract	91
1 Introdução	91
2 Material e métodos	92
3 Resultados e discussão	94
4 Conclusões	97
5 Agradecimentos.....	98
6 Referências	98

CONSIDERAÇÕES FINAIS.....100

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I – REFERENCIAL TEÓRICO

Página

Tabela 1 – Atividade de enzimas digestivas em tilápias mantidas sob diferentes temperaturas.....	26
Tabela 2 - Hidrólise de fitato pela enzima 6-fitase (mio-inositol hexaquis fosfato-6-fosfohidrolase) disponibilizando fósforo e minerais.....	27
Tabela 3 – Principais complexos ou <i>blends</i> enzimáticos testados em dietas formuladas com incorporação de ingredientes de origem vegetal, para tilápias.....	29

CAPÍTULO II – *BLEND* DE ENZIMAS DIGESTIVAS SOBRE CRESCIMENTO E COMPOSIÇÃO CORPORAL DE JUVENIS DE TILÁPIA DO NILO

Página

Tabela 1- Composição alimentar e nutricional da dieta experimental sem adição dos <i>blends</i> enzimáticos.....	44
Tabela 2 – Peso inicial (PI), peso final (PF), ganho em peso (GP), consumo de ração (CR), conversão alimentar (CA) e taxa de crescimento específico (TCE) de tilápia do Nilo alimentadas com dietas contendo enzimas exógenas.....	47
Tabela 3 – Medidas de Comprimento total final (CTF), Ganho comprimento total (GCT), Comprimento padrão final (CPF) e Ganho comprimento padrão (GCP) de tilápias do Nilo alimentadas com dietas contendo enzimas exógenas.....	48
Tabela 4 – Medidas de crescimento corporal de tilápias do Nilo alimentadas com dietas contendo enzimas exógenas.....	49
Tabela 5 – Rendimento de carcaça (RC), Índice viscerossomático (IVS), Índice hepatossomático (IHS) e Índice lipossomático (ILS) de tilápia do Nilo alimentadas com dietas contendo enzimas exógenas.....	50
Tabela 6 – Composição físico-química da carcaça de juvenis de tilápia do Nilo alimentadas com dietas contendo enzimas exógenas.....	52

CAPITULO III – NÍVEIS DE GLICOSE SANGUÍNEA E TAXA DE EXCREÇÃO DE AMÔNIA COMO METABÓLITOS INDICADORES DA ATIVIDADE DE ENZIMAS EXÓGENAS NA DIETA DE TILÁPIAS DO NILO

Página

Tabela 1- Composição alimentar e nutricional da dieta experimental sem adição dos <i>blends</i> enzimáticos.....	61
Tabela 2 – Níveis de Glicose sanguínea em tilápias do Nilo alimentadas com dietas <i>blend</i> enzimático.....	67

CAPITULO IV – VALORIZAÇÃO DE DIETAS COM PROTEASE, FITASE E ALFA-AMILASE PARA TILÁPIAS DO NILO EM TEMPERATURA SUB-ÓTIMA

Página

Tabela 1- Composição alimentar e nutricional das dietas experimentais.....	80
Tabela 2 – Peso inicial (PI), peso final (PF), ganho em peso (GP), consumo de ração (CR), conversão alimentar (CA) e taxa de crescimento específico (TCE) de juvenis de tilápia do Nilo alimentadas com dietas contendo enzimas exógenas.....	82
Tabela 3 – Comprimento total final (CTF), ganho em comprimento total (GCT), comprimento padrão final (CPF), altura final (AF), ganho em altura (GA), largura final (LAF) e ganho em largura (GLA) de juvenis de tilápia do Nilo alimentadas com dietas contendo enzimas exógenas.....	83
Tabela 4 – Composição físico-química de juvenis de tilápia do Nilo alimentadas com dietas contendo enzimas exógenas.....	85

CAPITULO V – ENZIMAS EXÓGENAS NA ALIMENTAÇÃO DO PEIXE GUPPY (*Poecilia reticulata*)

Página

Tabela 1 - Composição alimentar e nutricional das dietas experimentais.....	93
Tabela 2 – Desempenho de guppys alimentados com ração contendo ou não enzimas exógenas.....	95

Tabela 3 – Parâmetros de crescimento em guppys alimentados com ração contendo ou não enzimas exógenas.....	96
Tabela 4 – Taxas de crescimento, desenvolvimento e fator de condição de Fulton de guppys alimentados com ração contendo ou não enzimas exógenas.....	97

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I – REFERENCIAL TEÓRICO

Página

Figura 1 - Biocatalizador alfa-amilase atuando na hidrólise das ligações alfa – 1,4 do polissacarídeo amido.....	23
Figura 2 - Hidrólise de fitato pela enzima fitase disponibilizando fósforo e minerais.....	24
Figura 3 – Atuação das enzimas na digestão de proteínas em animais monogástricos.....	25
Figura 4 – Peso final(g) de tilápias do Nilo alimentadas com dietas suplementas com complexo enzimático SSF.....	31

CAPITULO III – NÍVEIS DE GLICOSE SANGUÍNEA E TAXA DE EXCREÇÃO DE AMÔNIA COMO METABÓLITOS INDICADORES DA ATIVIDADE DE ENZIMAS EXÓGENAS NA DIETA DE TILÁPIAS DO NILO

Página

Figura 1 – Valores de glicose no sangue de tilápias do Nilo alimentadas com dietas contendo blend enzimático, submetidas a 15 horas de jejum.....	65
Figura 2 – Curvas glicêmicas de tilápias do Nilo alimentadas com dietas contendo <i>blend</i> enzimático, durante 24 horas.....	68
Figura 3 – Taxa de excreção de amônia, em cinco intervalos de tempo ao longo de 24 horas, e tilápias do Nilo alimentadas com dietas contendo <i>blend</i> enzimático.....	70

CAPITULO IV – VALORIZAÇÃO DE DIETAS COM PROTEASE, FITASE E ALFA-AMILASE PARA TILÁPIAS DO NILO EM TEMPERATURA SUB-ÓTIMA

Página

Figura 1 – Ganho em comprimento padrão (cm) de tilápias do Nilo, alimentadas com dietas valorizadas com <i>blend</i> enzimático.....	84
--	----

ADITIVOS ENZIMÁTICOS NA DIETA DE TILÁPIAS DO NILO E PEIXE ORNAMENTAL

RESUMO GERAL

Os aditivos enzimáticos podem ser incluídos nas rações para peixes com a finalidade de auxiliar a ação das enzimas pancreáticas como a amilase, protease e lipase, ou podem favorecer a absorção de nutrientes, antes indisponíveis, pela ausência de enzimas específicas para degradar as barreiras físicas formadas pelos fatores antinutricionais e os componentes fibrosos da parede celular, especialmente, os polissacarídeos não amiláceos. Os objetivos com a realização deste trabalho foram avaliar a influencia de aditivos enzimáticos compostos por alfa-amilase, protease e fitase no desempenho, qualidade de carcaça, taxa de excreção de amônia e curva glicêmica de tilápias do Nilo, além de avaliar estes aditivos enzimáticos na valorização de dietas com alta proporção de ingredientes vegetais e redução de até 2,64% nos níveis recomendados de proteína e energia e implicações no desempenho e composição corporal de tilápia do Nilo. Também fez parte do escopo deste trabalho um estudo sobre a influência da inclusão das mesmas enzimas sobre o desempenho do peixe ornamental guppy. Os ensaios experimentais foram realizados no Laboratório de Aquicultura da UFPB/CCHSA. Para avaliar a eficiência do *blend* de enzimas digestivas sobre o crescimento, composição corporal (capítulo 2), curva glicêmica e excreção de amônia como indicadores da atividade de enzimas exógenas (capítulo 3) foram elaborados cinco dietas “on top” sendo: DC (dieta controle); DCblend1 (DC + 100ppm fitase + 200ppm protease); DCBlend2 (DC + 100ppm fitase + 400ppm protease); DCBlend3 (DC + 200ppm fitase + 200ppm protease + 133ppm alfa-amilase); e DCBlend4 (DC + 200ppm fitase + 400ppm protease + 200ppm alfa-amilase). A suplementação enzimática com a DCBlend4 possibilitou maior peso final, ganho em peso e taxa de crescimento específico. As curvas glicêmicas das tilápias do Nilo, ao longo de 24 horas, sugerem maior absorção de glicose nas primeiras 4 horas no período pós alimentação em todos os tratamentos avaliados. Picos de excreção de amônia foram observados às 2 h, 4 h e 8 h após oferta de ração, nas dietas suplementadas com as enzimas exógenas, provavelmente, relacionados às maiores disponibilidades de proteína. Estes dados sugerem que a suplementação de dietas “on top” com as enzimas exógenas protease e amilase pode aumentar as concentrações de glicose sanguínea e a taxa de excreção de amônia e

comprometer as qualidades da carcaça e da água nos sistemas produtivos. O experimento seguinte foi realizado com objetivo de testar a suplementação dos mesmos *blends* enzimáticos em dietas com reduções de 1,32 e 2,64% de ambos os níveis de proteína e de energia recomendados. Avaliou-se o desempenho e a composição físico-química corporal de tilápias mantidas em temperatura sub-ótima ($23,15 \pm 0,2^\circ\text{C}$). Foram elaboradas 4 dietas: Dieta controle “on top” (DC); Dieta 2 (DC + suplementação enzimática); Dieta 3 (redução em 1,32% em PB e energia digestível - ED + suplementação enzimática); e Dieta 4 (redução em 2,64% em PB e ED + suplementação enzimática). A suplementação enzimática foi eficiente em disponibilizar nutrientes suprimindo o déficit de até 2,64% em PB e ED na dieta das tilápias submetidas à temperatura sub-ótima, pois não houve diferenças entre os parâmetros de peso, conversão alimentar, altura e largura do corpo dos peixes. Para avaliar a influencia da suplementação enzimática no desempenho do peixe ornamental guppy foram testadas duas dietas, sendo uma suplementada com as enzimas exógenas protease, fitase e alfa-amilase. A suplementação enzimática influenciou de maneira positiva o crescimento e o desenvolvimento dos peixes ornamentais guppys. Recomenda-se a adição de preparados com as enzimas exógenas fitase, protease e, sobretudo alfa-amilase em dietas com deficit de 2,64% de proteína e energia digestível em virtude de melhorar o ganho em crescimento e desenvolvimento de tilápias do Nilo e peixe guppy.

Palavras-chave: Enzimas digestivas. Guppy. Nutrição de peixes

ENZYMATIC ADDITIVES IN THE DIET OF NILE TILAPS AND ORNAMENTAL FISH

GENERAL ABSTRACT

Enzyme additives may be included in fish feed to aid the action of pancreatic enzymes such as amylase, protease and lipase, or can increase the uptake of previously unavailable nutrients by the absence of specific enzymes to degrade the physical barriers of fibrous components of the cell wall, especially the non-starch polysaccharides. The objectives of this work were to evaluate the influence of enzymatic additives composed of alpha-amylase, protease and phytase on the performance, carcass quality, ammonia excretion rate and glycemic curve of Nile tilapia, besides evaluating these enzymatic additives in the valorization of diets with high proportion of vegetable ingredients and reduction till to 2.64% in recommended levels of protein and energy and implications on performance and body composition of Nile tilapia. Also, included in the scope of this work was a study on the influence of the inclusion of the same enzymes on the performance of guppy ornamental fish. The experimental tests were carried out at the Aquaculture Laboratory of the UFPB / CCHSA. In order to evaluate the efficiency of the digestive enzyme blend on growth, body composition (chapter 2), glycemic curve and ammonia excretion as indicators of exogenous enzyme activity (chapter 3), five on top diets were elaborated: DCblend1 (DC + 100ppm phytase + 200ppm protease); DCBlend2 (DC + 100ppm phytase + 400ppm protease); DCBlend3 (DC + 200ppm phytase + 200ppm protease + 133ppm alpha-amylase); and DCBlend4 (DC + 200ppm phytase + 400ppm protease + 200ppm alpha-amylase). Enzymatic supplementation with DCBlend4 allowed higher final weight, weight gain and specific growth rate. The glycemic curves of the blood of the Nile tilapia, during 24 hours, suggest a higher absorption of glucose in the first 4 hours in the post feeding period in all evaluated treatments. Ammonia excretion peaks were observed at 2 h, 4 h and 8 h after feed supply, in diets supplemented with exogenous enzymes, probably related to the higher availability of protein. These data suggest that supplementation of on-top diets with exogenous protease and amylase enzymes may increase blood glucose concentrations and ammonia excretion rate and compromise carcass and water qualities in production systems. The next experiment was carried out to test the supplementation of the same enzymatic blends in diets with reductions of 1.32 and 2.64% of both protein and energy levels recommended. The performance and physical-chemical composition of tilapia kept at

sub-optimal temperature ($23.15 \pm 0.2^{\circ}\text{C}$) were evaluated. Four diets were elaborated: Diet control "on top" (DC); Diet 2 (DC + enzyme supplementation); Diet 3 (reduction in 1.32% in CP and digestible energy - ED + enzymatic supplementation); and Diet 4 (reduction in 2.64% in CP and ED + enzyme supplementation). The enzymatic supplementation was efficient in providing nutrients supplying the deficit of up to 2.64% in PB and ED in the diet of tilapia submitted to sub-optimal temperature, since there were no differences between the parameters of weight, feed conversion, height and body width of fish. To evaluate the influence of enzymatic supplementation on the performance of guppy ornamental fish, two diets were tested, one of which was supplemented with the exogenous protease, phytase and alpha-amylase enzymes. Enzymatic supplementation positively influenced the growth and development of ornamental guppy fish. It is recommended the addition of preparations with the exogenous enzymes phytase, protease and especially alpha-amylase in diets with deficit of 2.64% of protein and digestible energy due to improving the gain in growth and development of Nile tilapia and guppy fish.

Key words: digestive enzymes, guppy, fish nutrition

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

A produção mundial de pescado ultrapassou 73 milhões de toneladas, dos quais a aquicultura em águas continentais é responsável por 47,1 milhões de toneladas, sendo a tilápia um das espécies mais produzidas de forma comercial. Acompanhando este crescimento, o consumo mundial *per capita* alcançou um valor médio de 20 kg (FAO, 2016).

O gênero *tilápia* engloba mais de 70 espécies originárias do continente africano, das quais cerca de vinte e duas são produzidas de forma comercial. É uma espécie, em geral, fitoplactófaga que apresenta boa aceitabilidade de ração, alta rusticidade e resistência a baixas concentrações de oxigênio dissolvido na água; Sendo também apreciada pelo mercado consumidor devido ao sabor suave e aroma agradável e pelo mercado produtor por apresentar rápido crescimento, desenvolvimento em curto período de produção e boa conversão alimentar quando alimentadas com dietas que atendam as exigências nutricionais da espécie (MOREIRA, 2001; FURUYA, 2010).

Devido a importância da espécie para a aquicultura, diversas pesquisas são realizadas no âmbito da nutrição de tilápias, como definição de exigências nutricionais (TEIXEIRA et al., 2008), coeficiente de digestibilidade dos alimentos utilizados nas formulações de rações (TACHIBANA et al., 2017) e inclusão de aditivos alimentares como prebióticos e biotecnológicos como as enzimas (MOURA et al., 2012b).

Na produção de peixes ornamentais, tecnologias devem ser empregadas visando possibilitar menor tempo de cultivo e redução de impactos ambientais, como a produção de rações com alta digestibilidade e formas físicas que atendam as exigências nutricionais da espécie em todos os seus estágios de vida (ZUANON et al., 2011). Dentre as espécies de maior potencial para o aquarismo está o peixe ornamental guppy (*Poecilia reticulata*), um animal de pequeno porte amplamente produzido e comercializado no mercado de peixes ornamentais.

As enzimas catalisam reações bioquímicas, aumentam a velocidade das reações no organismo, empregando uma baixa energia de ativação sem alterar o equilíbrio químico. Atuam por meio de sítio ativo em substratos específicos, mas são muito sensíveis às

mudanças de pH e a temperatura do meio, havendo assim, um limiar ótimo para máxima atividade e inativação (desnaturação) quando estes fatores externos se encontram abaixo ou acima desta faixa considerada ótima (NELSON & COX, 2014).

A produção industrial de enzimas ou complexos enzimáticos para utilização na nutrição animal é, geralmente, proveniente de leveduras, fungos ou bactérias em processos que envolvem meios líquidos ou pela fermentação em estágio sólido “SFF” (ROBISON & NIGAN, 2003; CAMPESTRINI et al., 2005).

Os aditivos enzimáticos podem ser adicionados às rações para peixes com a finalidade de auxiliar enzimas de produção endógena como a amilase, protease e lipase, ou podem favorecer a absorção de um nutriente que estava indisponível pela ausência de produção enzimática pelo organismo, como fitase e celulase (GOMES et al., 2016). A inclusão de complexos enzimáticos, em rações para tilápias possibilita resultados positivos no desempenho destes animais, permite a utilização eficiente do amido e proteína (MOURA et al., 2012b), melhora os coeficientes de digestibilidade das rações (OLIVEIRA, et al., 2007) e contribui para diminuir os fatores antinutricionais presentes em ingredientes de origem vegetal (TACHIBANA et al., 2010).

Os objetivos com a realização deste trabalho foram avaliar a utilização de misturas enzimáticas em rações “on top” em tilápia do Nilo e peixes ornamental guppy, e na valorização de dietas com redução nutricional na alimentação de tilápia do Nilo.

CAPÍTULO I

REFERENCIAL TEÓRICO

1. ENZIMAS DIGESTIVAS EM PEIXES

Nos peixes, não foi observada presença de enzimas digestivas na boca, no entanto, o estômago da maioria destes animais secreta enzimas proteolíticas. No intestino e cecos pilóricos estão presentes as enzimas produzidas pelo pâncreas, como tripsina, amilase, lipases e quitinases em peixes que se alimentam de crustáceos ou insetos (BALDISSEROTTO, 2009).

As microvilosidades dos enterócitos no intestino, além de aumentarem a superfície e absorção, também produzem enzimas como fosfatase alcalina, sacarase, maltase e dipeptidases. No pâncreas são produzidas e armazenadas as enzimas digestivas tripsina, quimiotripsina, carboxipolipeptidase, elastase, collagenase, amilases, lipases, fosfolipase A2 e quitinases. Estas enzimas são transportadas pelos ductos pancreáticos para a região anterior do intestino ou cecos pilóricos. A quantidade e atividade das enzimas pancreáticas variam de acordo com a espécie (FRACALOSSO & CYRINO, 2013).

A maioria das enzimas são proteínas, exceto alguns “RNAses” que desempenham atividade catalítica. Atuam aumentando a velocidade das reações bioquímicas, diminuindo a energia de ativação sem alterarem o equilíbrio químico; atuam por meio de sítio ativo, apenas em substrato específico; são sensíveis às mudanças de pH e temperatura do meio, havendo assim, um limiar ótimo para máxima atividade e inativação (desnaturação) quando estes fatores externos se encontram abaixo ou acima desta faixa considerada ótima (NELSON & COX, 2014).

A nomenclatura mais comumente usada para enzimas digestivas apresenta o sufixo “ase” incorporado ao nome do substrato da reação ou descrição de sua ação, como protease, amilase e lipase. Algumas enzimas mantem seu nome sem associação com a reação, por exemplo, a tripsina (CHAMPE et al, 2006).

As alfa-amilases são endoamilases que atuam catalisando a hidrólise das ligações glicosídicas alfa- 1,4 na amilose e amilopectina, moléculas que constituem o amido de uma maneira aleatória (Figura 1). Este processo libera glicose e carboidratos, que serão hidrolisados a glicose, para posterior absorção pelo organismo do animal. As proteases são enzimas que atuam sobre a proteína, quebrando ligações e liberando aminoácidos

prontamente disponíveis. Estes podem atuar nas ligações nas proteínas de armazenamento dos ingredientes de origem vegetal, liberando o amido para ser digerido, por sua vez, pela amilase (BEDFORD & PARTRIDGE, 2011).

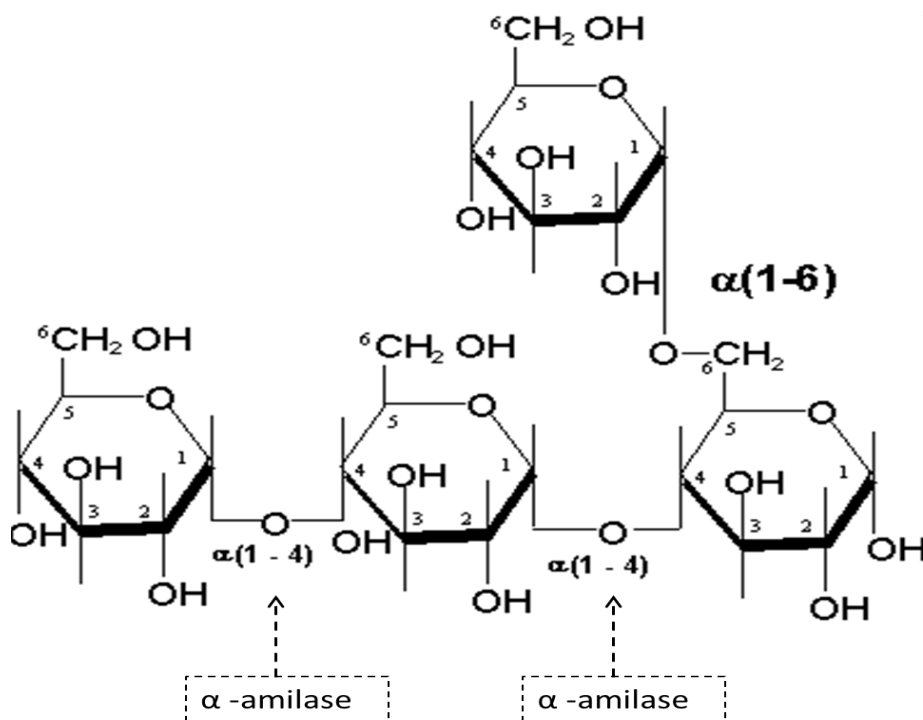


Figura 1 – Biocatalizador alfa-amilase atuando na hidrólise das ligações alfa – 1,4 do polissacarídeo amido. (Adaptado de NELSON & COX, 2014).

Nos mamíferos e aves a lipase e amilase são sintetizadas no pâncreas, no entanto, em algumas espécies de peixes onívoros ou herbívoros, essa síntese pode ocorrer na mucosa intestinal (FRACALOSSO & CYRINO, 2013). A lipase atua na degradação de lipídeos provenientes da alimentação, liberando ácidos graxos e glicerol no lúmen do intestino. Estes compostos desempenham importantes funções energéticas, estruturais e hormonais (MOURA et al., 2012a).

A fitase é a enzima que atua nas ligações do fitato ou ácidos fítico, complexo presente em algumas sementes de oleaginosas e leguminosas que armazena fósforo e se associa na forma de quelatos a minerais divalentes (Mg, Cu, Zn e Mn) tornando-os indisponíveis para os animais não ruminantes, visto que, estes não são capazes de metabolizar o fitato por não sintetizarem fitase (JACKSON & LI, 1996; CAMPESTRINI, et al., 2005). Esta enzima atua

hidrolisando fosfato nas posições 1,3 ou 6 do anel inositol do fitato liberando os minerais ligados ao fitato (LEI & PORRES, 2003) (Figura 2).

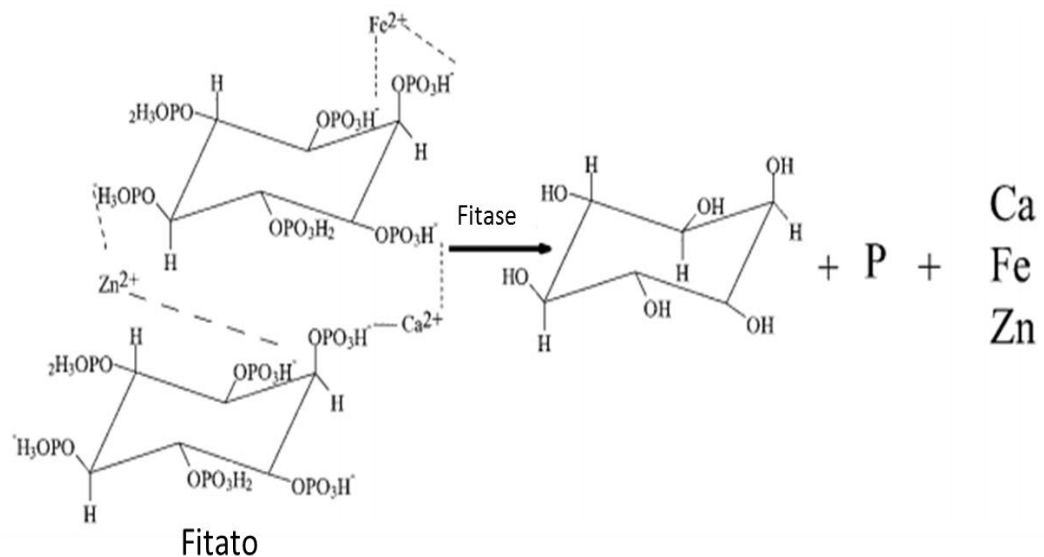


Figura 2 – Hidrólise de fitato pela enzima 6-fitase (mio-inositol hexaquis fosfato-6-fosfohidrolase) disponibilizando fósforo e minerais (Adaptado de LEI & PORRES, 2003).

A celulase é uma enzima que atua na degradação da celulose, componente estrutural da parede de células vegetais. Tilápias não são capazes de sintetizar essa enzima, no entanto, Saha et al. (2006) quantificando a atividade da celulase no quimo de tilápias moçambicana (*Oreochromis mossambica*) com habito alimentar onívoro, identificou atividade de enzimas celulolíticas provenientes da flora bacteriana anaeróbica destes animais.

As proteases são enzimas que atuam nas ligações peptídicas de proteínas e polipeptídeos (Figura 3), podem ser classificadas de acordo com a posição onde atuam na molécula proteica, as endopeptidases quebram ligações peptídicas no interior da molécula e as exopeptidases agem na porção carboxil terminal (SILVA et al. 2014).

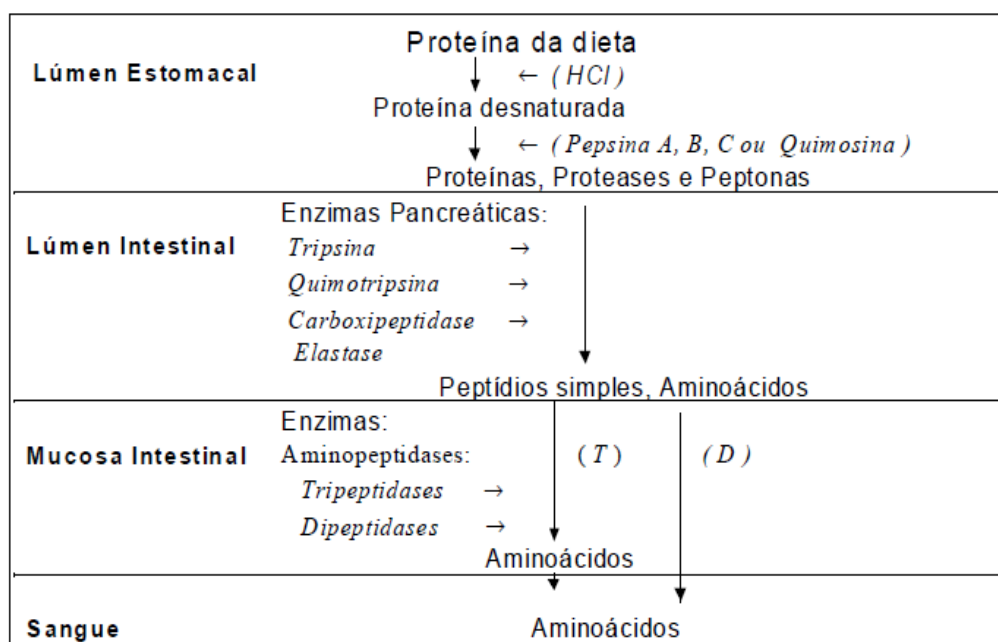


Figura 3 – Atuação das enzimas na digestão de proteínas em animais monogástricos. (Fonte: Adaptado de Rostagno; Pupa, 1998).

As enzimas digestivas apresentam especificidades quanto a quantidade e qualidade do substrato no qual atuam, ao pH do meio e a temperatura (Tabela 1). A eficiência digestiva das enzimas em rações com alta proporção de proteína e carboidratos de origem vegetal para tilápias pode diminuir quando sua especificidade não for respeitada e as condições do meio aquático onde o peixe está inserido.

A tripsina, enzima que atua sobre ligações peptídicas de aminoácidos específicos, foi avaliada no quimo de juvenis de tilápia-tailandesa submetidos a quatro temperaturas 20, 24, 28 e 32°C. O aumento da atividade da tripsina foi diretamente proporcional ao aumento da temperatura da água, sendo 0,3535 (nM.L⁻¹.s⁻¹) para tilápias mantidas em 20°C e 0,5587 (nM.L⁻¹.s⁻¹) para os animais mantidos em temperatura mais alta (MOURA, et al., 2009).

A amilase em tilápias do Nilo também apresenta forte relação com a temperatura na água. A atividade da amilase (UA) na digesta de tilápias do Nilo nas temperaturas 20, 24, 28 e 32°C, apresentou efeito linear, aumentando com a elevação da temperatura da água. Os autores atribuem os resultados ao maior consumo de ração pelos peixes, o que possibilitou o aumento do substrato amido, demonstrando que as enzimas digestivas podem ser induzidas pela disponibilidade do substrato no qual atuam (MOURA et al., 2007).

Tabela 1 – Atividade de enzimas digestivas em tilápias mantidas sob diferentes temperaturas.

Atividade das enzimas digestivas	Temperatura (°C)				Efeito
	20	24	28	32	
Amilase (UA) ¹	30.886	32.771	34.966	36.778	Linear (p<0,01): Y=20931,6+496,873T; R ² =0,99
Tripsina (nM.L ⁻¹ .s ⁻¹) ²	0,3535	0,363	0,4168	0,5587	Linear (p<0,01): Y=0,0167356-0,0121325T; R ² =0,83.
Lipase (UI) ³	148,36	229,00	360,93	406,11	Linear(p<0,01): Y=22,6291+302,258T; R ² =0,97.

¹(Moura et al., 2007) ; ² (Moura et al., 2009); ³(Moura et al., 2012a).

O pH interfere na atividade de enzimas digestivas em outras espécies de peixes como o tucunaré (*Cichla sp.*), apesar de apresentarem hábitos alimentares distintos, as tilápias tem a síntese de proteases influenciada pelas variações de pH . Soares et al. (2008) constatou que a atividade da protease exógena adicionada na dieta de tucunarés juvenis foi maior em pH ácido do que em pH alcalino.

Tilápias do Nilo, linhagem tailandesa, submetidas a diferentes temperaturas apresentaram maior atividade da lipase e maior atividade específica da lipase quando mantidas a 32°C, o ganho em peso e conversão alimentar melhoraram paralelamente a atividade da lipase (MOURA et al., 2012a).

A atividade de enzimas digestivas pode diminuir em peixes mantidos em jejum e, dependendo do período de jejum, podem demorar dias para retomar o mesmo nível de atividade quando os peixes reiniciam sua alimentação. Na maioria dos peixes, uma quantidade considerável das enzimas digestivas é reabsorvida na região posterior do intestino (BALDISSEROTTO, 2009).

2. PRODUÇÃO DE ADITIVOS ENZIMÁTICOS

As enzimas digestivas direcionadas a nutrição animal são extraídas de leveduras, fungos ou bactérias em processos que envolvem substrato líquido ou fermentação em estágio sólido onde, o crescimento de fungos é estimulado em um substrato específico (geralmente farelo de origem vegetal) para que o fungo sintetize um complexo de enzimas capazes de degradar o substrato, em quantidade e qualidade específicas. (ROBISON & NIGAN, 2003; CAMPESTRINI et al., 2005).

As amilases são de grande importância para a biotecnologia, pois podem ser aproveitadas em setores diversos da indústria, desde a produção de alimentos à produção têxtil e papelaria. A fonte mais utilizada para obtenção de amilases é a microbiana, no entanto podem ser obtidas de várias outras fontes, como plantas e animais. As enzimas amilolíticas hidrolisam moléculas de amido em produtos como dextrinas e pequenos polímeros de unidades de glicose. Conforme sua atuação, estas enzimas podem ser divididas em endoamilases e exoamilases (GUPTA et. al., 2003).

As fitases são divididas em duas categorias de acordo com o carbono do anel de mio-inositol onde a hidrólise inicia, sendo a 3-fitase (EC 3.1.3.8), 5-fitase (E.C. 3.1.3.72) e a 6-fitase (EC 3.1.3.8) (Bedford & Partridge, 2011).

A 3-fitase (mio-inositol hexaquis fosfato-3-fosfohidrolase) hidrolisa a ligação éster liberando o fosfato na posição C₃, já a 6-fitase (mio-inositol hexaquis fosfato-6-fosfohidrolas) inicia a hidrólise na posição C₆ (VATS & BANERJEE, 2004).

A 6-fitase pode ser obtida de bactérias (*Escherichia coli*) ou fungos (*Aspergillus ficuum*, *Aspergillus niger*). A fonte da fitase pode conferir variações na estabilidade da enzima em temperatura elevada (resistência ao calor). A temperatura ótima para fitase proveniente de fungos é 50°C e para fitase de bactérias é 60°C. A fonte também pode alterar a atividade enzimática (Tabela 2) (IGBASAN et al., 2000).

Tabela 2 - Atividade da enzima fitase de acordo com o organismo de formação e origem do gene da fitase

Atividade (FTU/g)	Organismo de deformação de produto	Origem do gene da fitase
5171	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Aspergillus ficuum</i>
106	<i>Brassica napus</i>	<i>Aspergillus ficuum</i>
2662	<i>Aspergillus oryzae</i>	<i>Peniophora lycii</i>
5017	<i>Trichoderma reesi</i>	<i>Aspergillus awamori</i>
2035	<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
4,66	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>

Fonte: IGBASAN et al., 2000.

As proteases podem ser obtidas de vegetais, animais, fungos, bactérias e leveduras. As leveduras são microorganismos muito utilizados na indústria de alimentos pela maioria das espécies não se enquadrar como patogênicas (RODRIGUES & SANT'ANNA, 2001). As

proteases bacterianas, obtidas principalmente das espécies de *Bacillus*, também são amplamente utilizadas por possuírem alta atividade catalítica (JOO & CHANG, 2005).

As enzimas utilizadas na alimentação de tilápias podem ser adicionadas de forma unitária ou na forma de *Blends* (mistura de enzimas são provenientes de espécies diferentes) ou de complexos (quando todas as enzimas presentes tem uma mesma origem).

A adição de enzimas de forma unitária pode favorecer maior aproveitamento de um determinado nutriente, como a suplementação com fitase (1000 FTU kg^{-1}) em dietas para tilápia do Nilo em sistema de aquapônia favoreceu a retenção de fósforo na carcaça dos peixes reduzindo a excreção de fósforo, mas não influenciou o crescimento dos peixes (CEROZI & FITZSIMMONS, 2017). No entanto, adição de enzimas em forma de complexos ou *blends* permite que enzimas atuem de forma simultânea, cada uma em seu substrato específico, possibilitando maior disponibilidade de nutrientes para os peixes (OLIVEIRA, 2007).

A enzima fitase utilizada na alimentação de tilápias é comercializada em dois estágios físicos, fitase em pó (BOCH et al., 2007) e fitase líquida, esta ultima forma física possibilita incorporação nas rações após extrusão (SILVA et al., 2007).

Na Tabela 3, são apresentadas as composições dos complexos ou *blends* enzimáticos mais utilizados na alimentação de tilápias, o principal ingrediente de origem vegetal utilizado na formulação da ração e a espécie de tilápia estudada.

A adição de complexos ou *blends* enzimáticos em dietas, com maior concentração de ingredientes de origem vegetal, para tilápias do Nilo (MOURA et al., 2012b) e tilápias vermelhas (LIN et al., 2007) resultaram em índices de crescimento e desenvolvimento melhores, como também em aumento do coeficiente de digestibilidade dos nutrientes da dieta (OLIVEIRA et al., 2007).

Aditivos enzimáticos em dietas contendo alimentos com alto teor de fibra, como o triticales (TACHIBANA et al., 2010) e o farelo de trigo (GUIMARÃES et al., 2009) foram eficientes ao contribuir para melhor relação enzima-substrato favorecendo a digestão dos nutrientes.

Tabela 3 – Principais complexos ou *blends* enzimáticos testados em dietas formuladas com incorporação de ingredientes de origem vegetal, para tilápias.

Composição do produto comercial	Principais ingredientes de origem vegetal	Espécie	Referencia
Celulase, protease e amilase.	Milho e farelo de soja	<i>Oreochromis niloticus</i>	Oliveira et al. (2007)
Protease neutra, β -glucanase e xilanase.	Farinha de colza, farelo de algodão, farelo de trigo	<i>Oreochromis niloticus</i> <i>x O. aureus</i>	Lin et al. (2007)
Lipase, protease e carboidrases.	Milho, farelo de soja e farelo de trigo	<i>Oreochromis niloticus</i>	Guimarães et al. (2009)
Endoxilanase e endo-beta-glucanase.	Triticale	<i>Oreochromis niloticus</i>	Tachibana et al. (2010)
Amilase, protease, celulase, lipase, pectinase, xilanase, β -glucanase e fitase.	Milho e farelo de soja	<i>Oreochromis niloticus</i>	Signor et al. (2010)
Protease, fitase, xilanase, β -Glucanase, celulase, amilase e pectinase.	Farelo de trigo	<i>Oreochromis niloticus</i>	Moura et al. (2012b)
Pepsina, papaína e α -amilase.	Glúten de milho e farelo de soja	<i>Oreochromis niloticus</i>	Goda et al. (2012)

O *blend* composto por fitase e protease produzidas em fermentação em estágio sólido (SSF), produzidas respectivamente pelos fungos *Aspergillus niger* e *A. oryzae*, aumentou a disponibilidade de proteínas, minerais, energia e lipídeos em dieta à base de proteína vegetal para tilápias do Nilo (NOVELLI et al., 2017).

A protease pode atuar em proteínas de armazenamento dos grãos, como conglucina, β -conglucina e kafirina facilitando a ação da fitase sobre o fitato armazenado na membrana da parede celular (SILVA et al. 2014).

3. RESULTADOS DA UTILIZAÇÃO DE ADITIVOS ENZIMÁTICOS EM RAÇÕES PARA PEIXES DE INTERESSE COMERCIAL

A inclusão de enzimas digestivas tem demonstrado eficiência na redução de fatores antinutricionais presentes nos ingredientes de origem vegetal, como os PNAs (polissacarídeos não amiláceos) que impedem a digestão e absorção dos carboidratos do endosperma e das proteínas que compõem as paredes celulares. A inclusão de celulase, ou complexos enzimáticos que contenham a celulase em sua composição podem ser uma alternativa para degradar os PNAs. A inclusão de um complexo enzimático (celulase, protease e amilase) para

tilápias do Nilo, melhorou os coeficientes de digestibilidade da matéria seca (81,92%), proteína bruta (64,91%), energia bruta (79,53%), amido (71,60), cálcio (97,50) e fósforo (90,64%) quando adicionadas até 0,05% (OLIVEIRA, et al., 2007).

Tachibana et al. (2010) ao avaliarem a suplementação com um *blend* de endo-xilanase e endo-beta-glucanase, sobre a digestibilidade dos nutrientes e energia do triticales, um híbrido do trigo com centeio, pela tilápia-do-nilo obtiveram máxima eficiência digestiva com a inclusão de 300 a 450 mg/kg do complexo. A suplementação enzimática de forma unitária também melhora os coeficientes de digestibilidade das rações. Gonçalves et al. (2005), constataram que a inclusão de fitase aumenta a disponibilidade de minerais (Mg, Cu, Zn e Mn) em farelos de origem animal para tilápias do Nilo juvenis. Guimarães et al. (2009) sugeriram que a suplementação enzimática com o complexo composto por lipase, protease e carboidrase adicionado até 0,04g/kg, nível máximo testado, aumenta os coeficientes de digestibilidade da proteína bruta e do extrato etéreo em rações contendo milho e farelo de soja para tilápias do Nilo.

O desempenho de tilápias do Nilo pode ser afetado pela suplementação enzimática. Moura et al. (2012b) avaliando a utilização de um complexo enzimático SSF (Protease, fitase, xilanase, β -Glucanase, celulase, amilase e pectinase) sugeriram a inclusão de 150 ppm por aumentar a disponibilidade de sacarase, glicose e frutose no intestinos. O peso final foi afetado linearmente quando foi adicionado 250 ppm do complexo SSF. Os resultados mostraram que o complexo SSF melhora o aproveitamento energético do alimento, contribui para que a proteína não seja desviada para produção de energia e, com isso, ser mobilizada de forma mais eficiente para a formação de tecidos (Figura 4).

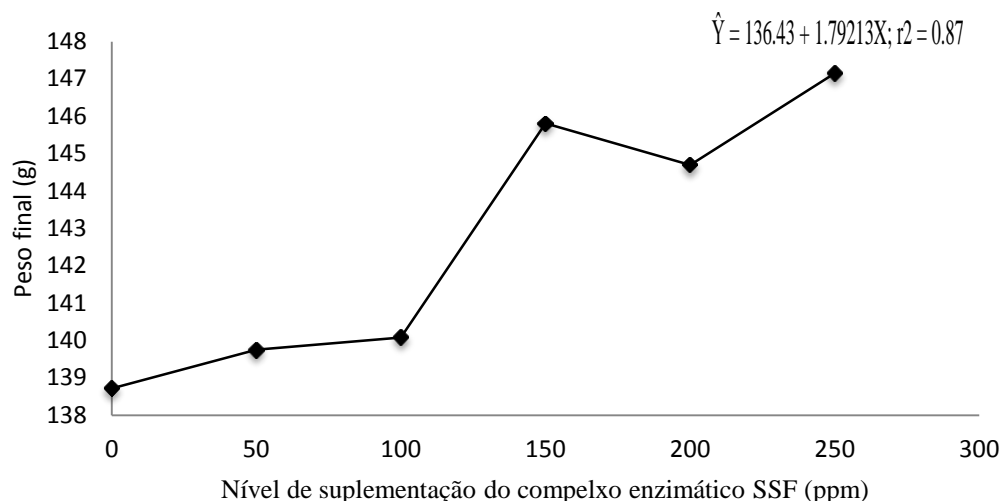


Figura 4 – Peso final(g) de tilápias do Nilo alimentadas com dietas suplementas com complexo enzimático SSF (adaptado de Moura et al., 2012).

Juvenis de Tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo farelo de soja e milho suplementadas com complexo enzimático (amilase, protease, celulase, lipase, pectinase, xilanase, β -glucanase e fitase), apresentaram menor consumo de ração e melhor conversão alimentar quando suplementadas, respectivamente, com 0,066% e 0,099%. Não houve efeito no ganho em peso, no entanto, os autores justificam que a suplementação enzimática pode contribuir para a redução de custos com alimentação, pela redução do consumo e melhora na conversão alimentar, sem perdas no ganho em peso (SIGNOR et al., 2010).

A adição das enzimas fitase, protease e alfa-amilase na dieta do peixe ornamental guppy (*Poecilia reticulata*) proporcionou maior ganho em peso, taxa de crescimento específico e melhor conversão alimentar sem que houvesse diferença em relação ao consumo de ração (GOMES et. al., 2017)

Em dietas para catfish africano (*Clarias gariepinus*), suplementadas com complexo enzimático composto por: xilanase, pentonases, amilase, hemicelulase, celulase, pectinases, celubiase e β -glucanase, foi observado que os animais alimentados com ração contendo o complexo enzimático obtiveram melhor conversão alimentar ($P < 0,05$) quando comparados aos que receberam ração controle (YILDIRIM et al., 2010).

O uso combinado de complexos enzimáticos (contendo fitase, protease e xilanase) e probióticos melhorou o peso final, taxa de crescimento específico, conversão alimentar e eficiência proteica em tilápias juvenis, além de favorecer a absorção de nutrientes por interferir de forma positiva na morfologia intestinal ao aumentar o diâmetro de microvilosidades e a superfície de absorção dos enterócitos (ADEOYE et al., 2016b).

Ao avaliarem a suplementação de fitase, protease e carboidrases de forma unitária em dietas para tilápia do Nilo, Adeoye et. al. (2016a) constataram que houve incremento no peso final e na taxa de crescimento específico para dietas suplementadas com fitase ou protease. A composição do corpo inteiro não diferiu quanto a proteína, lipídeos e cinzas, no entanto, as tilápias alimentadas com dietas contendo protease apresentaram menor teor de umidade quando comparada as tilápias da dieta controle.

A inclusão de fitase em dietas para alevinos aumentou o teor de cinzas e diminuiu o teor de extrato etéreo da carcaça de carpa húngara, uma espécie de comprovadamente possui elevada quantidade de gordura na carcaça (ROCHA et al., 2010).

A composição corporal de tilápias, em geral, não sofre efeito da suplementação com enzimas exógenas. Signor et al. (2010) não observaram efeito significativo da suplementação enzimática (com amilase, protease, celulase, lipase, pectinase, xilanase, β -glucanase e fitase) sobre os teores de umidade, proteína bruta e material mineral da carcaça. Segundo Boch et al. (2007), a suplementação de fitase nas rações não influenciou os conteúdos de matéria seca, proteína e lipídios da carcaça de tilápias do Nilo.

4. REFERENCIAS

ADEOYE, A. A., JARAMILLO-TORRES, A., FOX, S. W., MERRIFIELD, D. L., DAVIES, S. J. Supplementation of formulated diets for tilapia (*Oreochromis niloticus*) with selected exogenous enzymes: Overall performance and effects on intestinal histology and microbiota. **Animal Feed Science and Technology**, v. 215, p. 133-143, 2016a.

ADEOYE, A. A., YOMLA, R., JARAMILLO-TORRES, A., RODILES, A., MERRIFIELD, D. L., DAVIES, S. J. Combined effects of exogenous enzymes and probiotic on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth, intestinal morphology and microbiome. **Aquaculture**, v. 463, p. 61-70, 2016b.

BALDISSEROTTO, B. **Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura**. 2 ed. Santa Maria: Editora da UFSM, 2009.

BEDFORD, M. R.; PARTRIDGE, G. G. **Enzymes in farm animal nutrition**. 2. ed. London: CAB International, 2011.

BOCH, C. L.; PEZZATO, L. E.; CANTELMO, O. A.; BARROS, M. M. Fitase em rações para tilápia-do-nilo na fase de crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 5, p. 1455-1461, 2007.

CAMPESTRINI, E.; SILVA, V. T. M. da; APPELT, M. D. Utilização de enzimas na alimentação animal. **Revista Eletrônica Nutritime**, v. 2, n. 6, p. 259-272, 2005.

CEROZI, B. S.; FITZSIMMONS, K. Effect of dietary phytase on phosphorus use efficiency and dynamics in aquaponics. **Aquaculture International**, v. 25, n. 3, p. 1227-1238, 2017.

CHAMPE, P.C.P.; HARVEY, R. A.; FERRIER, D. R. **Bioquímica ilustrada**. Porto Alegre, ed. Artmed, 2006. 544p.

FAO. **El estado mundial de la pesca y la acuicultura. Contribución a la seguridad alimentaria y la nutrición para todos**. Roma. 253 p. 2016.

FRACALOSS, D. M.; CYRINO, J. E. P. **Nutriaqua: nutrição e alimentação de espécies de interesse para a aquicultura brasileira**. Florianópolis, SC: Sociedade Brasileira de Aquicultura e Biologia Aquática, 375 p. 2013.

FURUYA, W. M. **Tabelas Brasileiras para a Nutrição de Tilápias**. Toledo: GFM. 100p. 2010.

GODA, A. M. A., MABROUK, H. A. H. H., WAF, M. A. E. H., EL-AFIFI, T. M. Effect of using baker's yeast and exogenous digestive enzymes as growth promoters on growth, feed utilization and hematological indices of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* fingerlings. **Journal of Agricultural Science and Technology. B**, v. 2, n. 1B, 2012.

GOMES, V. D. S., SILVA, J. H. V., CAVALCANTI, C. R., DA FONSECA, S. B., JORDÃO FILHO, J., SILVA NETO, M. R., DA SILVA, F. B. Utilização de enzimas exógenas na nutrição de peixes - revisão de literatura. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 19, n. 4. 2016.

GOMES, V. D. S.; SILVA, J. H. V.; CAVALCANTI, C. R.; LIMA, M. C.; JORDÃO FILHO, J.; AMÂNCIO, A. L. L. Enzimas exógenas na alimentação do peixe guppy (*Poecilia reticulata*). **Archives of Veterinary Science**. v.22, n.3, p.24-29, 2017.

GONÇALVES, G. S., PEZZATO, L. E., BARROS, M. M., KLEEMAN, G. K., ROCHA, D. F. Efeitos da Suplementação de Fitase sobre a Disponibilidade Aparente de Mg, Ca, Zn, Cu, Mn e Fe em Alimentos Vegetais para a Tilápia-do-Nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.34, n.6, p.2155-2163, 2005.

GUIMARÃES, I. G., FALCON, D. R., SCHICH, D., BARROS, M. M., PEZZATO, L. E. Digestibilidade aparente de rações contendo complexo enzimático para tilápia-do-nilo. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, n. 6, p. 1397-1402, 2009.

GUPTA, R.; GIGRAS, P.; MOHAPATRA, H.; GOSWAMI, V.K.; CHAUHAN, B. Microbial α -amylases: a biotechnological perspective. **Process Biochemistry**. V. 38, p 1599-1616. 2003.

IGBASAN, F.A., SIMON, O., MILKSCH, G., DAN MANNER, K. Comparative Studies of The In vitro Properties of Phytases from Various Microbial Origins. **Archives Animal Nutrition**, 53, pag. 353-373. 2000.

JACKSON, L.; LI, M. H.; ROBINSON, E. H. Use of microbial phytase in channel catfish *Ictalurus punctatus* diets to improve utilization of phytate phosphorus. **Journal for the World Aquaculture Society**, v. 27, n. 3, p. 309-313, 1996.

JOO, HS.; CHANG, C.S. Production of an oxidant and SDS-stable alkaline protease from an alkaphilic *Bacillus clausii* i-52 by submerged fermentation: feasibility as a laundry detergent additive. **Enzyme and Microbial Technology**. New York, v.38, p.176-183, 2005.

LEI, X.G DAN PORRES, J.M., “Phytase Enzymology, Applications and Biotechnology”, **Biotechnology Letters**, 25, p. 1787-1794. 2003.

LIN, S.; MAI, K.; TAN, B. Effects of exogenous enzyme supplementation in diets on growth and feed utilization in tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. **Aquaculture research**, v. 38, n. 15, p. 1645-1653, 2007.

MOREIRA, H. L. M. **Fundamentos da moderna aquicultura**. Editora da ULBRA, 2001.

MOURA, G. S., OLIVEIRA, M. G. A., LANNA, E. T. A., MACIEL JÚNIOR, A., MACIEL, C. M. R. R. Desempenho e atividade de amilase em tilápias-do-nilo submetidas a diferentes temperaturas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 42(11), 1609-1615. 2007.

MOURA, G. S.; OLIVEIRA, M. G. A.; LANNA, E. A. T. Atividade de tripsina no quimo de tilápia-tailandesa submetida a diferentes temperaturas da água. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, n.11, p.2086-2090, 2009.

MOURA, G., OLIVEIRA, M. G. A., LANNA, E. Desempenho e atividade de lipase em tilápias do Nilo. **Archivos de zootecnia**, v. 61, n. 235, p. 367-374, 2012a.

MOURA, G.S.; LANNA, E.A.T.; FILER, K.; FALKOSKI, D.L.; DONZELE,J.L.; OLIVEIRA, M.G.A.; REZENDE, S.T. Effects of enzyme complex SSF (solid state

fermentation) in pellet diets for Nile tilapia. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.41, n.10, p.2139-2143, 2012b.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. Porto Alegre: Artmed, 2014.

NOVELLI, P. K., BARROS, M. M., PEZZATO, L. E., DE ARAUJO, E. P., DE MATTOS BOTELHO, R., FLEURI, L. F. Enzymes produced by agro-industrial co-products enhance digestible values for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): A significant animal feeding alternative. **Aquaculture**, v. 481, p. 1-7, 2017.

OLIVEIRA, G. R. et al. Digestibilidade de nutrientes em ração com complexo enzimático para tilápia-do-Nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 36, n. 6, p. 1945-1952, 2007.

ROBISON, T.; NIGAN, P. Bioreactor design for protein enrichment of agricultural residues by solid state fermentation. **Biochemical Engineering Journal**, v. 13, p. 107-203. 2003.

ROCHA, C.B.; POUEY, J.L.F.; S.R.N. PIEDRAS, S.R.N.; ENKE, D.B.S.; FERNANDES, J.M. Fitase na dieta de alevinos de carpa húngara: desempenho e características de carcaça. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.62, n.6, p.1462-1468, 2010.

RODRIGUES, A. N.; SANT'ANNA, E. S. Efeito do cloreto de sódio na produção de proteínas (*Saccharomyces cerevisiae*) em fermentação semi-sólida. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. V. 21, n. 1, p. 63-66. 2001.

ROSTAGNO, H. S.; PUPA, J. M. R. **Fisiologia da digestão e alimentação de leitões**. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO E MANEJO DE LEITÕES, 1998, Campinas, SP. Anais... Campinas: CBNA, p.60-87. 1998.

SAHA, S., ROY, R. N., SEN, S. K., RAY, A. K. Characterization of cellulase-producing bacteria from the digestive tract of tilapia, *Oreochromis mossambica* (Peters) and grass carp, *Ctenopharyngodon idella* (Valenciennes). **Aquaculture Research**, v. 37, n. 4, p. 380-388, 2006.

SIGNOR, A. A. et al. Desempenho de juvenis de Tilápia-do-nilo alimentados com rações contendo complexo enzimático. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 39, n. 5, p.977-983, 2010.

SILVA, J.H.V.; COSTA, F. G. P.; LIMA, R. B. Digestão e absorção das proteínas. In. SAKOMURA, N.K. ; SILVA, J. H. V.; COSTA, F. G. P. ; FERNANDES, J. B. K. ; HAUSCHILD, L. **Nutrição de Não Ruminantes**. 1. ed. Jaboticabal: Funep, 678p. 2014.

SILVA, T. D. C., FURUYA, W. M., DOS SANTOS, L. D., FUJII, K. M., MICHELATO, M., & IWAMOTO, B. S. Fitase líquida em dieta extrusada para juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). **Acta Scientiarum-Animal Sciences**, v. 29, n. 4, p. 449-455, 2007.

SOARES, E. C., PEREIRA FILHO, M., ROUBACH, R., SILVA, R. C. S. Protease exógena em dietas para juvenis de tucunaré-paca (*Cichla sp.*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 37, n. 6, p. 971-976, 2008.

TACHIBANA, L., GONÇALVES, G. S., FALCON, D. R., CASTAGNOLLI, N., PEZZATO, L. E. Digestibilidade aparente de nutrientes e energia da ração obtida por diferentes linhagens de tilápia-do-nilo, *Oreochromis niloticus*. **Revista Acadêmica: Ciência Animal**, v. 7, n.4, 2017.

TACHIBANA, L.; PINTO, L. G. Q.; GONÇALVES, G. S.; PEZZATO, L. E. Xilanase e β -glucanase na digestibilidade aparente de nutrientes do triticales pela Tilápia-do-nilo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.62, n.2, p.445-452, 2010.

TEIXEIRA, E. A., CREPALDI, D. V., FARIA, P. M. C., RIBEIRO, L. P., MELO, D. C. D.; EULER, A. C. C. Composição corporal e exigências nutricionais de aminoácidos para alevinos de tilápia ("*Oreochromis*" sp.). **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 9, n. 2, 2008.

VATS, P.; BANERJEE, U.C. Production studies and catalytic properties of phytases (myo-inositolhexakisphosphate phosphohydrolases): an overview. **Enzyme and Microbial Technology**, v.35, n.1, p.3-14, 2004.

YILDIRIM, Y.B.; TURAN, F. Effects of exogenous enzyme supplementation in diets on growth and feed utilization in African Catfish, *Clarias gariepinus*. **Jornal of Animal and Veterinary Advances**. V. 9, n. 2, p. 327-331, 2010.

ZUANON, J. A. S., SALARO, A. L., & FURUYA, W. M. Produção e nutrição de peixes ornamentais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, p. 165-174, 2011.

CAPÍTULO II

BLEND DE ENZIMAS DIGESTIVAS SOBRE CRESCIMENTO E COMPOSIÇÃO CORPORAL DE JUVENIS DE TILÁPIA DO NILO

BLEND DE ENZIMAS DIGESTIVAS SOBRE CRESCIMENTO E COMPOSIÇÃO CORPORAL DE JUVENIS DE TILÁPIA DO NILO

Resumo: Com este trabalho objetivou-se avaliar o desempenho e a composição físico-química da carcaça de juvenis de tilápia do Nilo alimentados com dietas, com grande proporção de ingredientes vegetais, suplementadas com quatro *blends* enzimáticos. O experimento foi conduzido durante 60 dias com 325 alevinos machos de tilápia do Nilo, pós-indução sexual, distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado em cinco tratamentos com cinco repetições. Os tratamentos foram constituídos de uma dieta controle (DC); DCBlend1 = DC + 100ppm fitase + 200ppm protease; DCBlend2 = DC + 100ppm fitase + 400ppm protease; DCBlend3 = DC + 200ppm fitase + 200ppm protease + 133ppm alfa-amilase, e DCBlend4 = DC + 200ppm fitase + 400ppm protease + 200ppm alfa-amilase. Foram avaliados o desempenho, qualidade da carcaça, taxa de crescimento, índices corporais e composição físico-química da carcaça. As tilápias alimentadas com os tratamentos DCBlend3 e DCBlend4, *blends* contendo alfa-amilase, além de fitase e protease, apresentaram melhores índices corporais e conversão alimentar. O *blend* 4 aumentou o peso final, ganho em peso e taxa de crescimento específico. Recomenda-se a inclusão do *blend* 4 composto por alfa-amilase, fitase e protease em preparados de enzimas para tilápias alimentadas com dietas com grande proporção de ingredientes vegetais.

Palavras-chave: aditivos alimentares; biotecnologia; suplementação enzimática

BLEND OF DIGESTIVE ENZYMES ON GROWTH AND BODY COMPOSITION OF JUVENILES OF NILE TILAPIA

Abstract: The objective of this work was to evaluate the performance and physicochemical composition of the carcass of Nile tilapia juveniles fed diets with a high proportion of vegetable ingredients supplemented with four enzymatic blends. The experiment was conducted for 60 days with 325 male post-induction Nile tilapia, distributed in a completely randomized design in five treatments with five replicates. The treatments were composed of a control diet (DC); DCBlend1 = DC + 100ppm phytase + 200ppm protease; DCBlend2 = DC + 100ppm phytase + 400ppm protease; DCBlend3 = DC + 200ppm phytase + 200ppm protease + 133ppm alpha-amylase, and DCBlend4 = DC + 200ppm phytase + 400ppm protease + 200ppm alpha-amylase. The performance, carcass quality, growth rate, body indexes and physicochemical composition of the carcass were evaluated. Tilapia fed with treatments DCBlend3 and DCBlend4, blends containing alpha-amylase, as well as phytase and protease, presented better body indexes and feed conversion. Blend 4 increased final weight, weight gain, and specific growth rate. It is recommended the inclusion of blend 4 with alpha-amylase, phytase and protease in tilapia enzyme preparations fed diets with a high proportion of vegetable ingredients.

Keywords: Food additives; Biotechnology; Enzyme Supplementation

1. INTRODUÇÃO

Os aditivos alimentares são adicionados às formulações com várias finalidades, desde melhorar a qualidade sensorial e conservação das rações (como palatabilizantes e antioxidantes) ao aumento da disponibilidade dos nutrientes, com a suplementação enzimática de rações.

A inclusão de enzimas em dietas para peixes, quando adicionadas de forma balanceada, permite melhorar o aproveitamento dos nutrientes presentes nas rações (TESSER et al., 2006), a utilização de ingredientes que apresentem fatores antinutricionais (OLIVEIRA et al., 2007), a eficiência digestiva das enzimas de produção endógena (SOARES et al., 2008), reduz o custo com alimentação e serve para mitigar o impacto ambiental gerado pelos sistemas de produção, com a redução de excreção de dejetos na água (CYRINO et al., 2010).

Os peixes onívoros, como a tilápia, são eficientes na síntese endógena de amilase (BALDISSEROTTO, 2009), entretanto, a suplementação das dietas com enzimas exógenas otimiza a digestão do amido, favorecendo a formação de interações mais rápidas e maiores ligações enzima-substrato. No entanto, a adição de amilase em excesso às dietas, pode prejudicar o crescimento e o desenvolvimento dos peixes aumentando as velocidades das reações metabólicas e a sobrecarga do fígado (NUNES et al., 2006).

A adição de fitase em rações para tambaqui, apesar de não influenciar de forma direta parâmetros de desempenho, diminuiu em 21% a excreção de fósforo, reduzindo o impacto ambiental causado por este mineral na qualidade da água no sistema de produção (BRANDÃO et al., 2015).

As proteases são enzimas que atuam na digestão de proteínas, e sua inclusão nas dietas para peixes tem por finalidade auxiliar às enzimas produzidas de forma endógena aumentando a disponibilidade do nutriente, e consequentemente melhorar parâmetros de desempenho como conversão alimentar, taxa de crescimento específico e ganho em peso (SOARES et al., 2008).

As enzimas podem ser adicionadas as rações para peixes de forma unitária (BRANDÃO et al., 2015), como complexos enzimáticos formados pela exposição de fungos à substratos específicos (MARTINS et al., 2016) ou pela elaboração de *blends* a partir de enzimas produzidas de forma individual (YIGIT et al., 2016).

Com este trabalho objetivou-se testar a eficiência de quatro *blends* enzimáticos compostos pelas enzimas alfa-amilase, protease e fitase, na melhoria do desempenho e composição físico-química da carcaça de juvenis de tilápia do Nilo alimentadas com dietas “on top” contendo alta proporção de ingredientes vegetais.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Aquicultura do Centro de Ciências Humanas, Sociais e Agrárias – CCHSA da Universidade Federal da Paraíba, Bananeiras – PB, por um período de 60 dias. Foram utilizados 325 alevinos machos de tilápia do Nilo, pós-indução sexual, com peso de aproximadamente $1,64 \pm 0,020\text{g}$, distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos e cinco repetições. As instalações experimentais consistiram de um sistema de recirculação fechada, com filtro mecânico e biológico, bomba de sucção, reservatório (1000 litros), dez caixas d'água (310 litros) e vinte e cinco gaiolas de tela, consideradas como unidade experimental. Este estudo faz parte de um projeto que foi submetido para avaliação do Comitê de Ética no uso de animais da Universidade Federal da Paraíba (CEUA-UFPB), sendo aprovado com o número de protocolo 087/2015.

Quatro *blends* enzimáticos foram elaborados a partir da combinação das enzimas digestivas fitase, alfa-amilase e protease. As misturas enzimáticas foram incorporadas à dieta controle em substituição ao inerte (Tabela 1) nas seguintes proporções: DC = dieta controle sem suplementação enzimática; DCBlend1 = DC + 100ppm fitase + 200ppm protease; DCBlend2 = DC + 100ppm fitase + 400ppm protease; DCBlend3 = DC + 200ppm fitase + 200ppm protease + 133ppm alfa-amilase; e DCBlend4 = DC + 200ppm fitase + 400ppm protease + 200ppm alfa-amilase.

Tabela 1- Composição alimentar e nutricional da dieta experimental sem adição dos *blends* enzimáticos.

Dieta (%)	
INGREDIENTES (Kg)	Dieta controle
Farelo de soja 45%	54,160
Milho	37,500
Farinha de peixes 55%	3,590
Fosfato bicálcico	2,813
Óleo de soja	1,000
Premix vitamínico e mineral ¹	0,500
Sal	0,100
L-lisina HCL	0,094
DL-metionina	0,073
L-treonina	0,040
Vitamina C	0,006
BHT	0,020
Inerte	0,100
	100,00
COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL (%)	
Energia digestível (Kcal/Kg)	3.036
Proteína bruta	30,0
Matéria seca	88,70
Cálcio	1,10
Cinzas	7,88
Fosforo disponível	0,78
Fosforo total	1,06
Lisina total	1,80
Met.+ cistina total	0,92
Metionina total	0,52
Potássio	1,13
Sódio	0,11
Treonina total	1,18
Vitamina C (mg/Kg)	0,06

¹Níveis de garantia por quilograma do produto: Vit. A, 500.000UI; Vit. D3, 200.000UI; Vit. E, 5.000mg; Vit. K3, 1.000mg; Vit. B1, 1.500mg; Vit. B2, 1.500mg; Vit. B6, 1.500mg; Vit. B12, 4.000mg; Ác. Fólico, 500mg; Pantotenato Ca, 4.000mg; Vit. C, 15.000mg; Biotina, 50mg; Inositol, 10.000; Nicotinamida, 7.000; Co, 10mg; Cobre, 500mg; Fe, 5.000mg; I, 50mg; Mn, 1500mg; Se, 10mg; Zn, 5.000mg.

A dieta controle foi formulada atendendo as exigências nutricionais para tilápias do Nilo descritas por Furuya (2010). Os ingredientes foram triturados, pesados e misturados (misturador “Y” USIBRAS[®]), para composição das dietas, as quais foram peletizadas (peletizadora CHAVANTE[®]) e armazenadas sobre refrigeração.

Os peixes foram alimentados quatro vezes por dia (8:00h; 11:00h; 14:30h e 17:00h) seguindo uma taxa de arraçoamento de 10% da biomassa, obtida através de biometrias quinzenais. Depois do ultimo fornecimento diário de ração, eram realizadas a limpeza de resíduos sólidos e a renovação de 5% da água no sistema. Diariamente, o pH, oxigênio dissolvido e temperatura foram monitorados com auxilio de peagâmetro (HANNA[®]) e oxímetro/termômetro (ICEL[®]). O teor de amônia total, dureza e alcalinidade foram mensurados semanalmente. Todos os parâmetros de qualidade da água mantiveram-se nos níveis recomendados para tilápia do Nilo (KUBITZA, 2000), com os seguintes valores: pH 7,23; oxigênio dissolvido 7,036 mg/l; temperatura 26,27°C e amônia total 0,625 (ppm); dureza 54,8 mg/l e alcalinidade 13,2mg/l.

Ao final do experimento as tilápias foram submetidas a 12 horas de jejum para esvaziamento do trato digestório, posteriormente, dez peixes por unidade experimental foram insensibilizados por imersão em gelo, abatidos, pesados, medidos e eviscerados para análises dos índices corpóreos e rendimento de carcaça.

As variáveis de desempenho avaliadas foram o peso final (PF), ganho em peso (GP), consumo de ração (CR), conversão alimentar (CA), comprimento total final (CTF) medido do focinho ao final da nadadeira caudal, ganho em comprimento total (GCT), comprimento padrão final (CPF) medido do focinho ao início da nadadeira caudal, ganho em comprimento padrão (GCP). Também foram tomadas a medidas a altura (medida à frente do 1º raio da nadadeira dorsal), largura (medida à frente do 1º raio da nadadeira dorsal) e a taxa de crescimento específico = $[(\text{In peso final} - \text{In peso inicial}) \div \text{tempo}] \times 100$.

Foram avaliados o rendimento de carcaça e os índices hepatossomático: $[(\text{peso do fígado} \div \text{peso da carcaça}) \times 100]$, lipossomático: $[(\text{peso da gordura intraperitoneal} \div \text{peso da carcaça}) \times 100]$ e viscerossomática: $(\text{peso das vísceras} \div \text{peso da carcaça}) \times 100$.

Para avaliação físico-química, três peixes inteiros foram triturados e homogeneizados gerando uma amostra composta por unidade experimental. A composição da carcaça foi feita utilizando-se a metodologia descrita pela Association of Official Analytical Chemistry – AOAC (2000), sendo realizadas em triplicata ao teor de umidade (%), cinzas (%), lipídeos totais (%) e proteína bruta (%).

Os dados obtidos foram analisados pelo teste F e, em caso de diferenças significativas as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste Tukey ($P \leq 0,05$).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Desempenho

O peso final (38,08g) foi maior para os peixes que receberam a dieta DCBlend4. A inclusão das enzimas fitase, alfa-amilase e protease na forma do *blend4* pode ter favorecido o peso final e o ganho em peso das tilápias ao disponibilizar maior quantidade de nutrientes dos ingredientes da ração, ou os substratos interligados que não são digeridos normalmente pelas enzimas de origem endógena (tabela 2).

Em experimento realizado com juvenis de tilápia do Nilo, Moura et al. (2012), observaram melhores resultados para o peso final e ganho em peso dos peixes alimentados com dietas com inclusão de até 0,025% de um complexo enzimático SSF formado por carboidrases, fitase e protease, sugerindo que a inclusão dessas enzimas promove resultados benéficos à produção da espécie.

O consumo de ração das tilápias que receberam a dieta contendo o *Blend4* foi superior ($P \leq 0,05$) ao consumo das tilápias dos outros tratamentos, enquanto os piores consumos foram observados nos tratamentos DC e DCblend1, no entanto, a melhor conversão alimentar (CA) foi obtida com as tilápias que receberam as dietas DCBlend4. Comparando as CA das tilápias alimentadas com a dieta controle e DCBlend1. Os DCBlend2 e DCBlend3 apresentaram resultados intermediários de CA, não diferindo de nenhum outro tratamento ($P > 0,05$).

Tabela 2 – Peso inicial (PI), peso final (PF), ganho em peso (GP), consumo de ração (CR), conversão alimentar (CA) e taxa de crescimento específico (TCE) de tilápia do Nilo alimentadas com dietas contendo enzimas exógenas

Dietas	PI (g)	PF (g)	GP (g)	CR (g)	CA (g)	TCE (%/dia)
DC ¹	1,627 ^a	31,210 ^d	29,582 ^d	46,814 ^d	1,57 ^b	4,923 ^d
DCBlend1 ²	1,635 ^a	32,220 ^d	30,584 ^d	48,331 ^d	1,57 ^b	4,967 ^d
DCBlend2 ³	1,653 ^a	35,029 ^c	33,376 ^c	52,544 ^c	1,56 ^{ab}	5,089 ^c
DCBlend3 ⁴	1,641 ^a	38,081 ^b	36,439 ^b	57,122 ^b	1,56 ^{ab}	5,239 ^b
DCBlend4 ⁵	1,655 ^a	42,466 ^a	40,810 ^a	63,699 ^a	1,55 ^a	5,407 ^a
CV(%)	1,43	1,69	1,76	1,69	1,35	6,0

¹DC = dieta controle sem suplementação enzimática, ²DCBlend1 = DC + 100ppm fitase + 200ppm protease, ³DCBlend2 = DC + 100ppm fitase + 400ppm protease, ⁴DCBlend3 = DC + 200ppm fitase + 200ppm protease + 133ppm alfa-amilase, ⁵DCBlend4 = DC + 200ppm fitase + 400ppm protease + 200ppm alfa-amilase. *Médias na mesma coluna seguidas de letras distintas diferem ($P \leq 0,05$) pelo teste Tukey

A maior taxa de crescimento específico (5,407 %/dia) foi encontrada nos juvenis de tilápia que consumiram o tratamento DCBlend4, contendo os maiores níveis de fitase (200ppm), protease (200ppm) e alfa-amilase (200ppm) sugerindo que a suplementação da dieta controle com o *blend* 4 estimulou mais rapidamente o crescimento dos peixes na fase juvenil. Segundo Carmo et al. (2008) peixes jovens apresentam ganho de peso mais rápido quando comparados aos mais velhos, fator associado, principalmente, a proporção corporal e o crescimento muscular.

Ao avaliar a suplementação de fitase, protease e carboidrases em dietas para tilápia do Nilo, Adeoye et al. (2016) constataram incremento no peso final e taxa de crescimento específico dos peixes alimentado com as dietas suplementadas com fitase ou protease.

O comprimento total final e ganho em comprimento total foram maiores ($P \leq 0,05$) para as tilápias que consumiram as dietas DCBlend3 e DCBlend4, conforme apresentado na Tabela 3.

O comprimento padrão foi maior nas tilápias alimentadas com as dietas DCBlend3 (9,62 cm) e DCBlend4 (9,71 cm), no entanto, não houve diferença significativa entre os

valores obtidos com a DCBlend3 e DCBlend2 (9,30 cm). O ganho em comprimento padrão foi maior para as tilápias que receberam as dietas DCBlend3 (5,93 cm) e DCBlend4 (6,02 cm).

Tabela 3 – Medidas de Comprimento total final (CTF), Ganho comprimento total (GCT), Comprimento padrão final (CPF) e Ganho comprimento padrão (GCP) de tilápias do Nilo alimentadas com dietas contendo enzimas exógenas¹

Dietas ²	CTF (cm)	GCT (cm)	CPF (cm)	GCP (cm)
DC	11,070 ^c	6,555 ^c	9,007 ^c	5,322 ^c
DCBlend1	11,127 ^c	6,613 ^c	9,143 ^c	5,457 ^c
DCBlend2	11,594 ^b	7,080 ^b	9,305 ^{bc}	5,619 ^{bc}
DCBlend3	12,128 ^a	7,614 ^a	9,625 ^{ab}	5,939 ^{ab}
DCBlend4	12,210 ^a	7,696 ^a	9,710 ^a	6,024 ^a
CV(%)	1,14	1,86	1,77	2,93

¹Médias na mesma coluna seguidas de letras distintas diferem ($P \leq 0,05$) pelo teste Tukey. ²DC = dieta controle sem suplementação enzimática, DCBlend1 = DC + 100ppm fitase + 200ppm protease, DCBlend2 = DC + 100ppm fitase + 400ppm protease, DCBlend3 = DC + 200ppm fitase + 200ppm protease + 133ppm alfa-amilase, DCBlend4 = DC + 200ppm fitase + 400ppm protease + 200ppm alfa-amilase.

Efeito significativo da dieta sobre os valores médios de altura final, ganho em altura, largura final e ganho em largura (Tabela 4) foram observados, onde, as dietas DCBlend3 (Dieta controle + 200ppm fitase + 200ppm protease + 133ppm alfa-amilase) e DCBlend4 (dieta controle + 200ppm fitase + 400ppm protease + 200ppm alfa-amilase) proporcionaram médias superiores.

As relações entre largura/altura podem indicar maior deposição de carne aumentando o filé, corte com alto valor comercial (BOSCOLO et al., 2001), o que torna o peixes desejáveis para a indústria especializada em filetagem, pois, maior ganho em altura e largura pode indicar melhores rendimentos de filé.

Tabela 4 – Medidas de crescimento corporal de tilápias do Nilo alimentadas com dietas contendo enzimas exógenas¹

Dietas ²	Ganho em altura		Ganho em	
	Altura final (cm)	(cm)	Largura final (cm)	largura (cm)
DC	3,095 ^b	1,970 ^b	1,301 ^b	0,601 ^b
DCBlend1	3,158 ^b	2,033 ^b	1,369 ^b	0,669 ^b
DCBlend2	3,180 ^b	2,055 ^b	1,386 ^b	0,686 ^b
DCBlend3	3,540 ^a	2,415 ^a	1,500 ^a	0,800 ^a
DCBlend4	3,610 ^a	2,485 ^a	1,600 ^a	0,900 ^a
CV(%)	2,75	4,17	3,29	6,36

¹Médias na mesma coluna seguidas de letras distintas diferem ($P \leq 0,05$) pelo teste Tukey. ²DC = dieta controle sem suplementação enzimática, DCBlend1 = DC + 100ppm fitase + 200ppm protease, DCBlend2 = DC + 100ppm fitase + 400ppm protease, DCBlend3 = DC + 200ppm fitase + 200ppm protease + 133ppm alfa-amilase, DCBlend4 = DC + 200ppm fitase + 400ppm protease + 200ppm alfa-amilase.

3.2. Rendimentos de carcaça e índices viscerais

O rendimento de carcaça e o índice viscerossomático não foram influenciados pela suplementação enzimática ($P > 0,05$). O índice hepatossomático das tilápias que receberam a dieta com a maior adição de enzimas (DCBlend4) foi menor do que o obtido pelas tilápias que receberam a dieta sem enzimas (Tabela 5).

O menor peso do fígado em relação a carcaça observados nas tilápia que receberam a dieta com o *blend4*, pode indicar que a maior disponibilidade de nutrientes associada com uma possível redução de fatores antinutricionais da dieta reduziu a sobrecarga de metabolização neste órgão.

O fígado é um órgão importante no metabolismo de nutrientes, sendo considerado ótimo indicador de patologias relacionadas a nutricional (HONORATO et al., 2013). Alterações na aparência, tamanho e histologia estão geralmente associados a grande atividade das células do fígado em decorrência da presença de algum composto químico ou ausência de alguma substância (TAKASHIMA & HIBIYA, 1995)

O índice lipossomático, que mede a porcentagem de gordura visceral, apresentou valores mais altos nos juvenis que receberam as dietas DCBlend3 (0,618%) e DCBlend4 (0,535 %).

Tabela 5 – Rendimento de carcaça (RC), Índice viscerossomático (IVS), Índice hepatossomático (IHS) e Índice lipossomático (ILS) de tilápia do Nilo alimentadas com dietas contendo enzimas exógenas¹

Dietas ²	Índices corporais (%)			
	RC	IVS	IHS	ILS
DC	80,95 ^a	12,34 ^a	2,455 ^a	0,589 ^{ab}
DCBlend1	81,52 ^a	12,74 ^a	2,090 ^{ab}	0,409 ^b
DCBlend2	81,57 ^a	11,01 ^a	1,977 ^{ab}	0,416 ^b
DCBlend3	81,57 ^a	12,74 ^a	2,174 ^{ab}	0,618 ^a
DCBlend4	81,99 ^a	12,50 ^a	1,758 ^b	0,535 ^{ab}
CV(%)	2,0	6,84	12,93	16,48

¹Médias na mesma coluna seguidas de letras distintas diferem ($P \leq 0,05$) pelo teste Tukey. ²DC = dieta controle sem suplementação enzimática, DCBlend1 = DC + 100ppm fitase + 200ppm protease, DCBlend2 = DC + 100ppm fitase + 400ppm protease, DCBlend3 = DC + 200ppm fitase + 200ppm protease + 133ppm alfa-amilase, DCBlend4 = DC + 200ppm fitase + 400ppm protease + 200ppm alfa-amilase.

As tilápias que cosumiram as dietas DCBlend1 e DCBlend2 apresentaram menor índice lipossomático, ou seja, menor deposição de gordura visceral em relação a carcaça. Este parâmetro pode está relacionado a ausência de alfa-amilase nas dietas e a atuação da enzima protease na liberação de aminoácidos com utilização das cadeias de carbono destes para demandas energéticas, visto que, segundo o NRC (2011) uma particularidade dos peixes é utilizar proteína e lipídios da dieta como fonte energética devido a escassez de carboidratos no ambiente aquático.

A gordura visceral está diretamente ligada ao teor de reservas energéticas dos peixes, uma deposição excessiva de gordura nas vísceras pode indicar desbalanço na relação energia/proteína das dietas, podendo reduzir o rendimento de carcaça (FIGUEIREDO et al., 2014). No entanto, na presente pesquisa não foi observada deposição excessiva de gordura visceral, evidenciando que o incremento do índice lipossomático pode está relacionado com a

atuação eficiente da enzima alfa-amilase sobre o amido, disponibilizando maior quantidade de carboidratos simples que foram armazenados como reservas energéticas.

A gordura presente nas vísceras da tilápia também pode ser direcionada para outros nichos de mercado visando atender uma demanda específica, como a produção de energias renováveis com a utilização do óleo extraída da gordura visceral para a produção de biodiesel (MOTA et al., 2014).

3.3.Composição química corporal

Os teores de umidade da carcaça dos juvenis não apresentaram diferença entre a dieta controle (DC) e as dietas suplementadas com enzimas exógenas, havendo diferença apenas entre as dietas DCBlend1 (Dieta controle + 100ppm fitase + 200ppm protease) e DC Blend2 (Dieta controle + 100ppm fitase + 400ppm protease), as quais variavam em sua composição quanto a quantidade da enzima protease (Tabela 6).

Os teores de cinzas e lipídeos não apresentaram diferença em função da suplementação ou não com aditivos enzimáticos. Signor et al. (2010), ao testar a eficiência de um complexo enzimático (composto por protease, fitase, lipase e carboidrases) na alimentação de tilápias do nilo, também não observaram efeito significativo do complexo em função dos teores de umidade, proteína bruta e material mineral da carcaça. Embora não significativo, os teores de lipídeos nas carcaças das tilápias aumentaram, respectivamente, em 5,1 e 3,0% com a adição dos *blends* enzimáticos 3 e 4 que, além de fitase e protease, continham amilase.

O teor de proteína bruta (%) aumentou nas carcaças das tilápias que consumiram a dieta DCBlend2 (Dieta controle + 100ppm fitase + 400ppm protease) quando comparadas a dieta sem suplementação enzimática (DC) e a dieta DCBlend1 (Dieta controle + 100ppm fitase + 200ppm protease).

Tabela 6 – Composição físico-química da carcaça de juvenis de tilápia do Nilo alimentadas com dietas contendo enzimas exógenas¹.

Dietas ²	Umidade (%)	Cinzas (%)	Lipídeos totais (%)	Proteína bruta (%)
DC	73,98 ^{ab}	13,75 ^a	24,92 ^a	52,01 ^b
DCBlend1	68,26 ^b	13,51 ^a	26,85 ^a	52,67 ^b
DCBlend2	74,52 ^a	13,17 ^a	24,90 ^a	56,14 ^a
DCBlend3	73,94 ^{ab}	12,87 ^a	26,19 ^a	53,59 ^{ab}
DCBlend4	73,58 ^{ab}	13,77 ^a	25,69 ^a	53,35 ^{ab}
CV(%)	3,61	3,82	3,26	5,45

¹Médias na mesma coluna seguidas de letras distintas diferem ($P \leq 0,05$) pelo teste Tukey. ²DC = dieta controle sem suplementação enzimática, DCBlend1 = DC + 100ppm fitase + 200ppm protease, DCBlend2 = DC + 100ppm fitase + 400ppm protease, DCBlend3 = DC + 200ppm fitase + 200ppm protease + 133ppm alfa-amilase, DCBlend4 = DC + 200ppm fitase + 400ppm protease + 200ppm alfa-amilase.

As dietas DCBlend3 e DCBlend4 não diferiram dos demais tratamentos ($P \geq 0,05$). Segundo Signor et al. (2013) a inclusão de enzimas exógenas em outras espécies onívoras, como o peixe ornamental kinguio também não influenciou a composição da carcaça.

4. CONCLUSÃO

Tilápias juvenis tem melhor desempenho produtivo alimentadas com dietas “on top” suplementadas com 200ppm de fitase, 400ppm de protease e 200ppm de alfa-amilase.

5. REFERÊNCIAS

ADEOYE, A. A., JARAMILLO-TORRES, A., FOX, S. W., MERRIFIELD, D. L., DAVIES, S. J. Supplementation of formulated diets for tilapia (*Oreochromis niloticus*) with selected exogenous enzymes: Overall performance and effects on intestinal histology and microbiota. **Animal Feed Science and Technology**, v. 215, p. 133-143, 2016.

Association of Official Analytical Chemists (AOAC). Official methods of analysis. 16th ed. Arlington (VA), USA: Association of Official Analytical Chemists. 2000.

BALDISSEROTTO, B. **Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura**. 2 ed. Santa Maria: Editora da UFSM, 2009.

BOSCOLO, W. R.; HAYASHI, C.; SOARES, C. M. Desempenho e características de carcaça de machos revertidos de tilápia do nilo (*Oreochromis niloticus*), linhagens tailandesa e comum, nas fases inicial e de crescimento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.30, n.5, p.1391-1396, 2001.

BRANDÃO, L. V., TENÓRIO, G. L. O., BRANDÃO, V. M. D., DE OLIVEIRA COSTA, L. C., JUNIOR, G. P. P., ROUBACH, R. Influência da adição de fitase em dietas para tambaqui. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 41, n. 4, p. 1025-1032, 2015.

CARMO, J. L., FERREIRA, D. A., DA SILVA JÚNIOR, R. F., DE SOUZA SANTOS, R. M., DE SOUZA CORREIA, E. Crescimento de três linhagens de tilápia sob cultivo semi-intensivo em viveiros. **Revista Caatinga**, v. 21, n. 2, 2008.

CYRINO, J. E. P.; BICUDO, A. J. A.; SADO, R. Y.; BORGHESI, R.; DAIRIKI, J. K. A piscicultura e o ambiente – o uso de alimentos ambientalmente corretos em piscicultura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.68-87, 2010.

FIGUEIREDO, R. A. C. R., SOUZA, R. C., BEZERRA, K. S., CAMPECHE, D. F. B., CAMPOS, R. M. L., SOUZA, A. M., MELO, J. F. B. Relação proteína:carboidrato no desempenho e metabolismo de juvenis de pacamã (*Lophiosilurus alexandri*). **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 66, n. 5, p. 1567-1576, 2014.

FURUYA, W. M. **Tabelas Brasileiras para a Nutrição de Tilápias**. Toledo: GFM. 100p. 2010.

HONORATO C.A., ASSANO M., CRUZ C., CARNEIRO D.J., MACHADO M.R.F. Histologia do intestino de tilápia do Nilo alimentados com dietas contendo diferentes fontes de proteína. **Nucleus Animalium**. v. 1, n. 5, p. 85-92. 2013.

KUBITZA, F. **Tilápia: tecnologia e planejamento na produção comercial**. Jundiaí SP edição do autor, p.19, 2000.

MARTINS, M. G., DE SOUZA MOURA, G., FERREIRA, T. A., FERREIRA, A. L., SANTOS, T. G., PEDREIRA, M. M. Inclusão de complexo enzimático SSF em rações para juvenis de tambacu. **Archives of Veterinary Science**, v. 21, n. 1, 2016.

MOTA, F. A., DOS SANTOS, F. F. P., DA SILVA, A. A., MALVEIRA, J. Q., COSTA FILHO, J. T. Desenvolvimento de uma unidade piloto destinada a extração do óleo de vísceras de tilápia para posterior utilização na cadeia produtiva de biodiesel. **Revista GEINTEC-Gestão, Inovação e Tecnologias**, v. 4, n. 3, p. 1252-1269, 2014.

MOURA, G.S.; LANNA, E.A.T.; FILER, K.; FALKOSKI, D.L.; DONZELE, J.L.; OLIVEIRA, M.G.A.; REZENDE, S.T. Effects of enzyme complex SSF (solid state fermentation) in pellet diets for Nile tilapia. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.41, n.10, p.2139-2143, 2012.

NRC. Nutrient Requirement of Warm Fishes and Shellfishes. Washington, D.C. **Nutrient Requirement of domestic Animals National Academy of Science** – National Research Council, 2011.

NUNES, E.S.S.; CAVERO, A.S.; MANOEL PEREIRA-FILHO, M.; ROUBACH, R. Enzimas digestivas exógenas na alimentação de juvenis de tambaqui. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v.41, n.1, p.139-143, jan. 2006.

OLIVEIRA, G. R.; LOGATO, P. V. R.; FREITAS, R. T. F.; RODRIGUES, P. B.; ELIAS TADEU FIALHO, E. T.; DIODATTI, F. C. Digestibilidade de nutrientes em ração com complexo enzimático para tilápia-do-nilo. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.36, n.6, p.1945-1952, 2007.

SIGNOR, A. A.; BOSCOLO, W.R.; BITTENCOURT, F.; FEIDEN, A.; GONÇALVES, G.S.; FREITAS, J.M.A. Desempenho de juvenis de Tilápia-do-nilo alimentados com rações contendo complexo enzimático. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.5, p.977-983, 2010.

SIGNOR, A.A.; LUCHESI, J.D.; COSTA, J.M.; FRIES, E.M.; ALTEVIR SIGNOR, A.; FEIDEN, A.; BOSCOLO, W.R. Complexo enzimático na dieta de alevinos de kinguio (*Carassius auratus*). **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 3, p. 1381-1388, 2013.

SOARES, E.C.; PEREIRA FILHO, M.; ROUBACH, R.; SILVA, R.C.S. Protease exógena em dietas para juvenis de tucunaré-paca (*Cichla sp.*). **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.37, n.6, p.971-976, 2008.

TAKASHIMA, F.; HIBIYA, T. **An atlas of fish histology normal and pathological features**. 2.ed. Kodansha: Gustav Fischer Verlag, 1995.

TESSER, M. B.; FLORES-QUINTANA, C. I.; CARNEIRO, D. J.; PIZAULO JUNIOR, J. M.; PORTELLA, M. C. Suplementação de enzimas exógenas em dieta microparticulada para larvicultura do pacu. **Revista Brasileira de Zootecia**, v.35, n.6, p.2211-2218, 2006.

YIGIT, N. O., BAHADIR KOCA, S., DIDINEN, B. I., DILER, I. Effect of protease and phytase supplementation on growth performance and nutrient digestibility of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) fed soybean meal-based diets. **Journal of Applied Animal Research**, p. 1- 4, 2016.

CAPÍTULO III

NÍVEIS DE GLICOSE SANGUÍNEA E TAXA DE EXCREÇÃO DE AMÔNIA COMO INDICADORES DA ATIVIDADE DE ENZIMAS EXÓGENAS EM TILÁPIAS DO NILO RECEBENDO DIETAS “ON TOP”

NÍVEIS DE GLICOSE SANGUÍNEA E TAXA DE EXCREÇÃO DE AMÔNIA COMO INDICADORES DA ATIVIDADE DE ENZIMAS EXÓGENAS EM TILÁPIAS DO NILO RECEBENDO DIETAS “ON TOP”

Resumo: A realização dos ensaios experimentais teve como objetivo avaliar os níveis de glicose sanguínea (mg/dL) e a taxa de excreção de amônia (mg/kg/h) durante 24 horas pós alimentação, como indicadores da eficiência da atividade de enzimas exógenas em dietas “on top” para tilápias do Nilo. Para avaliação da curva de glicose sérica e da taxa de excreção de amônia em tilápias do Nilo, foram realizados dois ensaios, onde foram testadas a composição e concentração das enzimas fitase, alfa-amilase e protease. Os tratamentos foram compostos por uma dieta controle (DC), que posteriormente foi suplementada com um *blend* 1 contendo 100ppm fitase + 200ppm protease, um *blend* 2 composto por 100ppm fitase + 400ppm protease, depois o *blend* 3 contendo 200ppm fitase + 200ppm protease + 133ppm alfa-amilase, e o *blend* 4 com 200ppm fitase + 400ppm protease + 200ppm alfa-amilase. O pico da glicemia sanguínea das tilápias do Nilo ocorreu nas primeiras 4 horas pós alimentação das tilápias em todos os tratamentos avaliados. As dietas suplementadas com fitase, protease e alfa-amilase (*blends* 3 e 4) promoveram maiores níveis de glicose sanguínea, enquanto, os picos de excreção de amônia ocorreram às 2h, 4h e 8h pós alimentação dos peixes, o que pode está relacionado ao aumento da disponibilidade de proteína pela suplementação das dietas com a protease. As concentrações de glicose sanguínea e a taxa de excreção de amônia podem ser indicadores indiretos da eficiência de atividade das enzimas amilase e protease no processo digestivo, e ajuda na mitigação dos impactos de alimentação no custo de produção de peixes e poluição das águas nos sistemas de produção de tilápias.

Palavras-chave: *Blend* enzimático; Curva glicêmica; Excreção de amônia

**BLOOD GLUCOSE LEVELS AND AMMONIA EXCRETION RATE AS
METABOLITICS INDICATORS OF THE ACTIVITY OF EXOTIC ENZYMES IN
THE NILO TILÁPIAS DIET**

Abstract: The objective of this study was to evaluate blood glucose levels (mg / dL) and ammonia excretion rate (mg / kg / h) during 24 hours post feed as indicators of the efficiency of the activity of exogenous enzymes in diets "On top" for Nile tilapia. In order to evaluate the serum glucose and the ammonia excretion rate in Nile tilapia, two tests were performed, where the composition and concentration of phytase, alpha-amylase and protease enzymes were tested. The treatments were composed of a control diet (DC), which was later supplemented with a blend 1 containing 100ppm phytase + 200ppm protease, a blend 2 composed of 100ppm phytase + 400ppm protease, then blend 3 containing 200ppm phytase + 200ppm protease + 133ppm alpha-amylase, and blend 4 with 200ppm phytase + 400ppm protease + 200ppm alpha-amylase. The blood glycemia peak of the Nile tilapia occurred in the first 4 hours post tilapia feeding in all treatments evaluated. The diets supplemented with phytase, protease and alpha-amylase (blends 3 and 4) promoted higher levels of blood glucose, whereas peaks of ammonia excretion occurred at 2h, 4h and 8h after fish feed, which may be related to increased protein availability by supplementing the diets with the protease. Blood glucose concentrations and ammonia excretion rates may be indirect indicators of the efficiency of amylase and protease enzyme activity in the digestive process, and aid in mitigating feed impacts on fish production cost and water pollution in feed systems. tilapia production.

Keywords: Enzymatic blends; Glycemic curve; Ammonia excretion

1. INTRODUÇÃO

As enzimas são proteínas indispensáveis para a realização dos processos digestivos metabólicos nos seres vivos, pois, a digestão e as reações bioquímicas que acontecem no intestino e no metabolismo são catalisadas por enzimas. Estas aumentam a velocidade das reações diminuindo a energia de ativação sem alterar o equilíbrio químico, além disso, são específicas atuando por meio de sítio ativo apenas em determinado substrato, no caso proteínas, amido e fitato, e são sensíveis às mudanças de pH e temperatura do meio, atuando em um limiar ótimo no qual ocorre máxima atividade (NELSON & COX, 2014).

A suplementação com enzimas digestivas melhora o coeficiente de digestibilidade das rações (OLIVEIRA et al., 2007) e promove melhor desempenho zootécnico de peixes (MOURA et al., 2012).

O nível de glicose sanguínea e a excreção de amônia como produtos dos processos digestivos, absorptivos e dos processos metabólicos dependentes da ação catalítica de enzimas digestivas no metabolismo de carboidratos e proteínas podem ser usados como indicadores da eficiência digestiva de um *blend* composto por enzimas exógenas.

Segundo Bedford e Partridge (2011), a glicose disponibilizada no lúmen intestinal, pela digestão enzimática de carboidratos complexos, é absorvida pelos enterócitos para a corrente sanguínea. Urbinati et al. (2004) destacam que a concentração de glicose sanguínea também está diretamente relacionado as respostas fisiológicas de uma série de agentes estressores, como variações de temperatura, o manejo empregado e o transporte da mesma.

Enquanto, a excreção de amônia está diretamente relacionada com tipo de dieta consumida pelos peixes (LAM et al., 2008), o peso, estágio de desenvolvimento (GARCIA et al., 2012) e quantidade ou disponibilidade da proteína presente na dieta.

Estudos buscando reduzir o potencial poluente da aquicultura possuem diversas frentes, deste a modificações no conteúdo e níveis de proteína das dietas (VALBUENA-VILLARREAL et al., 2011), ao uso de peixes transgênicos, que sintetizam altos níveis de hormônio do crescimento (GH) e tem menor excreção de amônia (KOBAYASHI et al., 2007).

A suplementação enzimática pode promover o aumento da digestibilidade proteica, vindo a influenciar de forma positiva na redução da excreção de compostos nitrogenados no ambiente aquático, diminuindo assim o impacto ambiental causado pela deposição destes nutrientes sobre a qualidade da água no sistema de produção (SILVA et al., 2007).

A realização dos ensaios experimentais teve como objetivo avaliar os níveis de glicose sanguínea (mg/dL) e a taxa de excreção de amônia como indicadores metabólitos da eficiência de quatro *blends* enzimáticos, com variação na composição e concentração das enzimas exógenas, para tilápias do Nilo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

A avaliação a curva de glicose sérica e da taxa de excreção de amônia das tilápias do Nilo, foi realizada em dois ensaios experimentais distintos conduzidos no Laboratório de Aquicultura do Centro de Ciências Humanas, Sociais e Agrárias – CCHSA da Universidade Federal da Paraíba, Bananeiras – PB. Este estudo fez parte de um projeto submetido e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal da Paraíba (CEUA-UFPB), com o número de protocolo 087/2015.

Foram testados nos dois ensaios quatro *blends* enzimáticos diferindo na composição e concentração de enzimas exógenas. Os blends foram incorporados a dieta nas seguintes proporções: DC = dieta controle sem suplementação enzimática (Tabela 1), DCBlend1 = DC + 100ppm fitase + 200ppm protease, DCBlend2 = DC + 100ppm fitase + 400ppm protease, DCBlend3 = DC + 200ppm fitase + 200ppm protease + 133ppm alfa-amilase, e DCBlend4 = DC + 200ppm fitase + 400ppm protease + 200ppm alfa-amilase.

A dieta controle foi formulada atendendo as exigências nutricionais para tilápias do Nilo descritas por Furuya (2010). Os ingredientes foram triturados, pesados e misturados (misturador “Y” USIBRAS[®]), para composição das dietas, as quais foram peletizadas (peletizadora CHAVANTE[®]) e armazenadas sobre refrigeração.

Tabela 1- Composição alimentar e nutricional da dieta experimental sem adição dos *blends* enzimáticos.

Dieta (%)	
INGREDIENTES (Kg)	Dieta controle
Farelo de soja 45%	54,160
Milho	37,500
Farinha de peixes 55%	3,590
Fosfato bicálcico	2,813
Óleo de soja	1,000
Premix vitamínico e mineral ¹	0,500
Sal	0,100
L-lisina HCL	0,094
Dl-metionina	0,073
L-treonina	0,040
Vitamina C	0,006
BHT	0,020
Inerte	0,100
	100,00
COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL (%)	
Energia digestível (Kcal/Kg)	3.036
Proteína bruta	30,0
Matéria seca	88,70
Cálcio	1,10
Cinzas	7,88
Fosforo disponível	0,78
Fosforo total	1,06
Lisina total	1,80
Met.+ cistina total	0,92
Metionina total	0,52
Potássio	1,13
Sódio	0,11
Treonina total	1,18
Vitamina C (mg/Kg)	0,06

¹Níveis de garantia por quilograma do produto: Vit. A, 500.000UI; Vit. D3, 200.000UI; Vit. E, 5.000mg; Vit. K3, 1.000mg; Vit. B1, 1.500mg; Vit. B2, 1.500mg; Vit. B6, 1.500mg; Vit. B12, 4.000mg; Ác. Fólico, 500mg; Pantotenato Ca, 4.000mg; Vit. C, 15.000mg; Biotina, 50mg; Inositol, 10.000; Nicotinamida, 7.000; Co, 10mg; Cobre, 500mg; Fe, 5.000mg; I, 50mg; Mn, 1500mg; Se, 10mg; Zn, 5.000mg.

O ensaio experimental 1 foi realizado para avaliar a curva de glicose (mg/dL) em 120 tilápias, pós-indução sexual com o hormônio 17 α -metiltestosterona, peso médio $35,8 \pm 3,7$ g alimentadas com as dietas DC, DCBlend1, DCBlend2, DCBlend3 e DCBlend4.

Os peixes foram distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos e três repetições, permanecendo alojados durante 60 dias em um sistema de recirculação fechada, com filtro mecânico e biológico, bomba de sucção, reservatório (1000 litros), dez caixas d'água (310 litros) e quinze gaiolas de tela, consideradas como unidade experimental.

Os peixes foram alimentados quatro vezes por dia (8:00h; 11:00h; 14:30h e 17:00h) seguindo uma taxa de arraçoamento de 10% da biomassa, obtida através de biometrias quinzenais. Após último fornecimento diário de ração, foi realizada a limpeza de resíduos sólidos e renovação de 5% da água no sistema. Diariamente, o pH, oxigênio dissolvido e temperatura foram monitorados com auxílio de peagâmetro (HANNA®) e Oxímetro/termômetro (ICEL®).

As concentrações de amônia total, dureza e alcalinidade foram mensurados semanalmente. Todos os parâmetros de qualidade da água estavam de acordo com os recomendados para tilápia do Nilo (KUBITZA, 2000), com os seguintes valores: pH 7,23; Oxigênio dissolvido 7,036 mg/mol; Temperatura 26,27°C e amônia total 0,625 (ppm); Dureza 54,8 mg/l e Alcalinidade 13,2mg/l.

Após um período de adaptação às dietas com duração de 60 dias, os peixes permaneceram em jejum por 15 horas antes da primeira coleta de sangue realizada às 7:50h para determinar a concentração inicial de glicose.

Após coleta inicial de sangue, as tilápias foram alimentadas às 8:00h para que a mudança de horários não interferisse no ritmo circadiano, depois a alimentação cessou e as coletas de sangue iniciaram 30 minutos, 1h, 2h, 4h, 8h, 12h e 24 horas após a alimentação realizada às 8:00h.

A coleta de amostras de sangue foi realizada por punção venosa próximo a nadadeira caudal, com seringas não heparinizadas de 1ml e agulha 8x0,30mm. O sangue de cada um dos três peixes por tratamento foi coletado em cada tempo de medição, em intervalo de tempo

inferior a 5 minutos. A glicose foi mensurado em seguida pelo método da glicose desidrogenase flavina-adenina dinucleotídeo (GDH-FAD), por meio de glicosímetro portátil Bayer ContourTM TS e tiras reagentes.

Os peixes não foram anestesiados para que não houvesse superestimação do parâmetro avaliado, seguindo sugestão de Simões et al. (2012) que observaram elevação na concentração de glicose sanguínea em tilápias sob efeito anestésico do eugenol independente da concentração utilizada, fator que atribuem a mobilização de glicose a partir do glicogênio presente no fígado para a corrente sanguínea.

A coleta de sangue seguiu metodologia utilizada por Môro (2013), onde o autor justifica que para minimizar a influência do manuseio e coleta de sangue nos valores de glicose, cada peixe foi submetido à análise uma única vez.

O ensaio experimental 2 foi realizando visando quantificar a taxa de amônia total ($\text{NH}_3 + \text{NH}_4$) excretada pelos animais alimentados com as dietas DC, DCBlend1, DCBlend2, DCBlend3, DCBlend4 e Jejum (tilápias mantidas em jejum durante 72 horas) totalizando seis tratamentos e com quatro repetições. A estrutura física consistiu de quatorze aquários com capacidade para 2,5 litros, aeração constante por meio de compressor e pedras porosas, e aquecedores individuais de 2,5 watts. Diariamente os aquários foram lavados, com renovação total da água.

Os parâmetros da qualidade da água (pH, oxigênio dissolvido e temperatura) foram mensurados em todos os aquários individualmente com o auxílio de um peagâmetro (HANNA®) e oxímetro/termômetro (ICEL®) durante o período de coleta da água. Todos os parâmetros de qualidade da água estavam de acordo com os recomendados para tilápia do Nilo (KUBITZA, 2000), com os seguintes valores: pH 6,75; Oxigênio dissolvido 5,11 mg/mol; Temperatura 27,83°C.

Foram utilizados exemplares de tilápia do Nilo com peso médio inicial de $2,63 \pm 0,4\text{g}$. Sendo mantidas nos aquários de alimentação por 24 horas, recebendo alimentação até saciedade aparente, às 08h00min; 11h00min; 14h00min e 16h00min e sendo transferidas para os aquários de coleta, onde permaneciam por mais 24 horas. Após período de adaptação de quinze dias, as coletas de água foram realizadas durante um período experimental de 30 dias.

No dia seguinte ao período de “alimentação”, após fornecimento de ração no primeiro horário da manhã (08h00min), os peixes foram transferidos para os “aquários de coleta”, onde 50 mL de água foram coletadas a intervalos de 0:00; 2:00; 4:00; 8:00; 12:00 e 24:00 horas após alimentação. Para os animais que permaneciam em jejum, foi estabelecida como coleta 1, o horário de transferência das tilápias para os aquários de coleta.

Para a coleta da água foram utilizados potes plásticos previamente lavados com solução de ácido clorídrico 10% e água destilada. Em seguida, as amostras foram congeladas mantidas até realização das análises. Para quantificar o teor de amônia total presente na água as análises foram realizadas segundo metodologia descrita por Koroleff (1976) utilizando espectrofotômetro de absorção visível e realizando a leitura em densidade ótica de 650 nm. A partir da leitura da absorbância foi obtido o teor de amônia total em miligramas por litro, possibilitando quantificar a taxa de excreção de amônia por meio da equação:

$$\text{Taxa de Excreção Endógena} = (C0 - C1) \times V \div (W \times T).$$

Onde, C0 = concentração de amônia no tempo 2; C1 = concentração de amônia no tempo 1; V = volume do aquário (em litros); W = peso do peixe (kg); T = lapso de tempo (horas).

Os dados da glicemia sérica e da taxa de excreção de amônia nas tilápias do Nilo foram submetidos a análise de variância (ANOVA), em caso de significância aplicou-se o teste de médias Duncan ($p < 0,05$).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Taxa glicêmica

Após 15 horas de jejum, os tratamentos DCBlend3 (Dieta controle + 200ppm fitase + 200ppm protease + 133ppm alfa-amilase) e DCBlend4 (Dieta controle + 200ppm fitase + 400ppm protease + 200ppm alfa-amilase) promoveram aumento nos níveis de glicose sanguínea das tilápias (Figura 1).

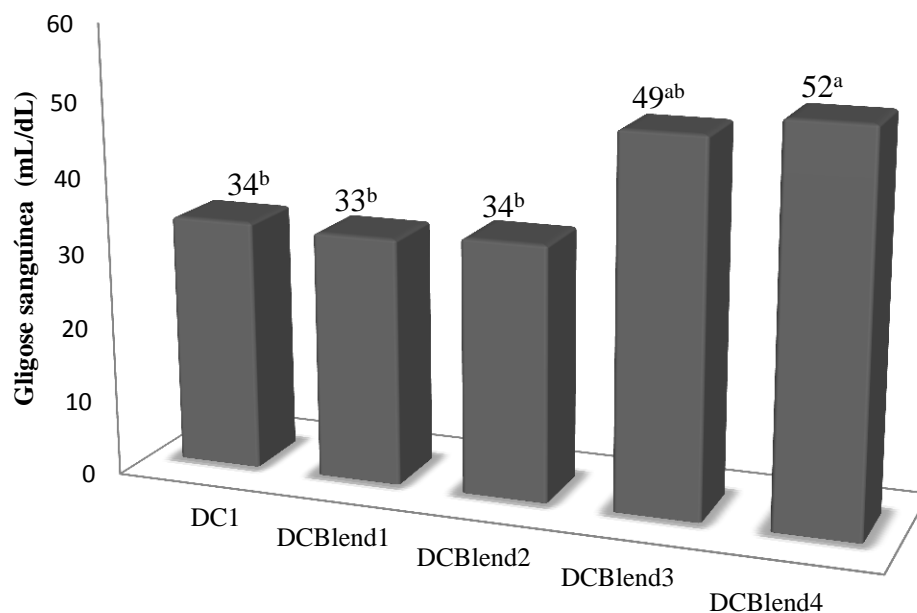


Figura 1 – Valores de glicose no sangue de tilápias do Nilo alimentadas com dietas contendo *blend* enzimático, submetidas a 15 horas de jejum.

O aumento da glicose sanguínea pode indicar que a suplementação com os *blends* enzimáticos contendo amilase em sua composição, foi eficiente em catalisar ligações de carboidratos complexos disponibilizando o monossacarídeo glicose em maior quantidade no intestino. A explicação para o aumento da glicemia nas tilápias que receberam as dietas com os dois *blends* contendo alfa-amilase foram os aumentos da digestão e absorção de glicose intestinal. Estas diferenças na glicemia, considerando que as dietas foram isonutritivas para energia reforça a hipótese que a adição de alfa-amilase nas dietas aumenta a eficiência digestiva e absorção de glicose intestinal.

Embora a síntese endógena de amilase em espécies de peixes onívoras, como a tilápia do Nilo, seja eficiente em catalisar reações e disponibilizar carboidratos simples no intestino destes animais (BALDISSEROTTO, 2009), a suplementação com enzimas exógenas em quantidades apropriadas pode promover maior absorção do nutriente, refletindo em melhores

índices de crescimento. Nunes et. al. (2006) observaram que a inclusão de até 0,05% de amilase exógena na dieta de Tambaqui (*Colossoma macropomum*) juvenis possibilitou melhores ganhos em crescimento, no entanto, níveis superiores retardaram o ganho em peso e crescimento, resultados que os autores atribuem a uma sobrecarga no fígado, devido a intensificação de reações metabólicas neste sítio de atuação.

As amilases são enzimas produzidas de forma endógena em animais de produção. A alfa-amilase produzida no pâncreas é secretada no duodeno, onde atua hidrolisando ligações glicosídicas α 1 – 4 presentes no amido. A glicose disponibilizada no lúmen do intestino é absorvida pelos enterócitos para a corrente sanguínea (BEDFORD; PARTRIDGE, 2011).

A glicose sanguínea pode ser usada como um indicador de estresse na produção de peixes. Intensa mobilização de glicose na corrente sanguínea pode indicar respostas fisiológicas adaptativas a condição, buscando recuperar homeostase (MARENGON et al., 2015).

Os níveis de glicose sanguínea apresentados pelas tilápias, independente da dieta ou tempo de coleta estão abaixo do que Biswas et al. (2004) considerou para tilápias do Nilo submetidas a situação de estresse, 160,2 mg/dL. Indicando que a maior mobilização de glicose sérica observada nos peixes dos tratamentos DCBlend3 e DCBlend4 não deve ser atribuída a uma situação de estresse.

A suplementação com enzimas exógenas aumenta os coeficientes de digestibilidade da proteína bruta e energia bruta das dietas para peixes onívoros (MAGRI FILHO et al., 20215). O aumento na disponibilidade de carboidratos simples pode promover a utilização destes para a produção de reservas corporais ou como fonte de energia para reações metabólicas endógenas, poupando os aminoácidos consumidos na dieta para crescimento em formação de tecido, principalmente muscular.

Esta hipótese está em concordância com uma particularidade dos peixes em utilizar a proteína para gerar energia devido à escassez de carboidratos no ambiente aquático, tornando o organismo mais adaptado à utilização de proteína e lipídeos como fonte energética (NRC, 2011).

As concentrações de glicose sanguínea nos primeiros 30 minutos após alimentação, foram maiores para as tilápias que receberam as dietas DCBlend3 e DCBlend4 suplementadas com alfa-amilase, no entanto, esta não diferiu da dieta DCBlend2, que possui suplementação mais alta de protease quando comparada a dieta DCBlend1 (tabela 2).

Tabela 2 – Níveis de Glicose sanguínea em tilápias do Nilo alimentadas com dietas suplementadas com diferentes *blends* enzimáticos¹

Dietas ²	Tempo pós-prandial						
	30 min	1 hora	2 horas	4 horas	8 horas	12 horas	24 horas
DC	39 ± 4,8 ^c	78 ± 0,6 ^b	64 ± 6,6 ^a	38 ± 10,0 ^a	32 ± 3,5 ^{bc}	47 ± 1,7 ^a	37 ± 1,1 ^a
DC Blend1	39 ± 4,4 ^c	53 ± 11,5 ^d	54 ± 6,2 ^a	30,3 ± 8,6 ^a	27 ± 2,2 ^c	48 ± 14,0 ^a	36 ± 0,6 ^a
DC Blend2	43 ± 1,5 ^{bc}	65 ± 11,0 ^c	82,6 ± 5,3 ^a	41,3 ± 1,7 ^a	49 ± 2,4 ^{ab}	47 ± 17,3 ^a	48 ± 1,1 ^a
DC Blend3	58,33 ± 2,0 ^a	47 ± 1,0 ^d	75 ± 2,6 ^a	40,3 ± 2,8 ^a	61 ± 1,7 ^a	31 ± 05,0 ^a	38 ± 1,1 ^a
DC Blend4	55 ± 2,4 ^{ab}	91 ± 9,1 ^a	73 ± 10,0 ^a	35 ± 3,3 ^a	56 ± 10,88 ^a	61 ± 2,2 ^a	39 ± 2,8 ^a
CV (%)	15,95	10,02	19,76	21,55	23,2	30,16	11,57

¹Médias na mesma coluna seguidas de letras distintas diferem ($P \leq 0,05$) pelo teste de Duncan. ²DC = dieta controle sem suplementação enzimática, DCBlend1 = DC + 100ppm fitase + 200ppm protease, DCBlend2 = DC + 100ppm fitase + 400ppm protease, DCBlend3 = DC + 200ppm fitase + 200ppm protease + 133ppm alfa-amilase, DCBlend4 = DC + 200ppm fitase + 400ppm protease + 200ppm alfa-amilase.

As tilápias alimentadas com a dieta DCBlend4 (DC + 200ppm fitase + 400ppm protease + 200ppm alfa-amilase), apresentaram os maiores níveis de glicose sanguínea 1 hora após alimentação. Após este período, não houve diferença para os níveis de glicose sanguínea entre os tratamentos 2h, 4h, 12h e 24 horas após alimentação. As 8h, tilápias dos tratamentos DC e DCBlend1 apresentaram os menores níveis, quando comparadas as demais dietas.

As curvas glicêmicas do sangue das tilápias do Nilo, ao longo de 24 horas podem indicar que houve maior absorção de glicose nas primeiras 4 horas após alimentação em todos os tratamentos avaliados (Figura 2). Este comportamento da curva indica que as tilápias foram eficientes em metabolizar os carboidratos presentes nas rações a base de milho, soja e farinha de peixe, independente da suplementação. Quando observando os picos de glicose, é possível observar que as dietas suplementadas com *blend* composto por 200ppm fitase, 200ppm protease e 133ppm alfa-amilase (DCBlend3); e o *blend* formado por 200ppm fitase, 400ppm

protease, 200ppm alfa-amilase (DCBlend4) possibilitaram picos mais altos de glicose no sangue das tilápias do Nilo, demonstrando que os dois *blends* enzimáticos foram eficientes em aumentar a digestibilidade do carboidrato das dietas.

Oliveira et al. (2007) destacam que a suplementação conjunta de enzimas exógenas pode ser justificada por permitir que diversas enzimas atuem de forma simultânea e complementar sobre a ração possibilitando maior disponibilidade de proteína e energia na dieta, redução de fatores antinuticionais e, conseqüentemente, maior aproveitamento destes nutrientes pelos peixes.

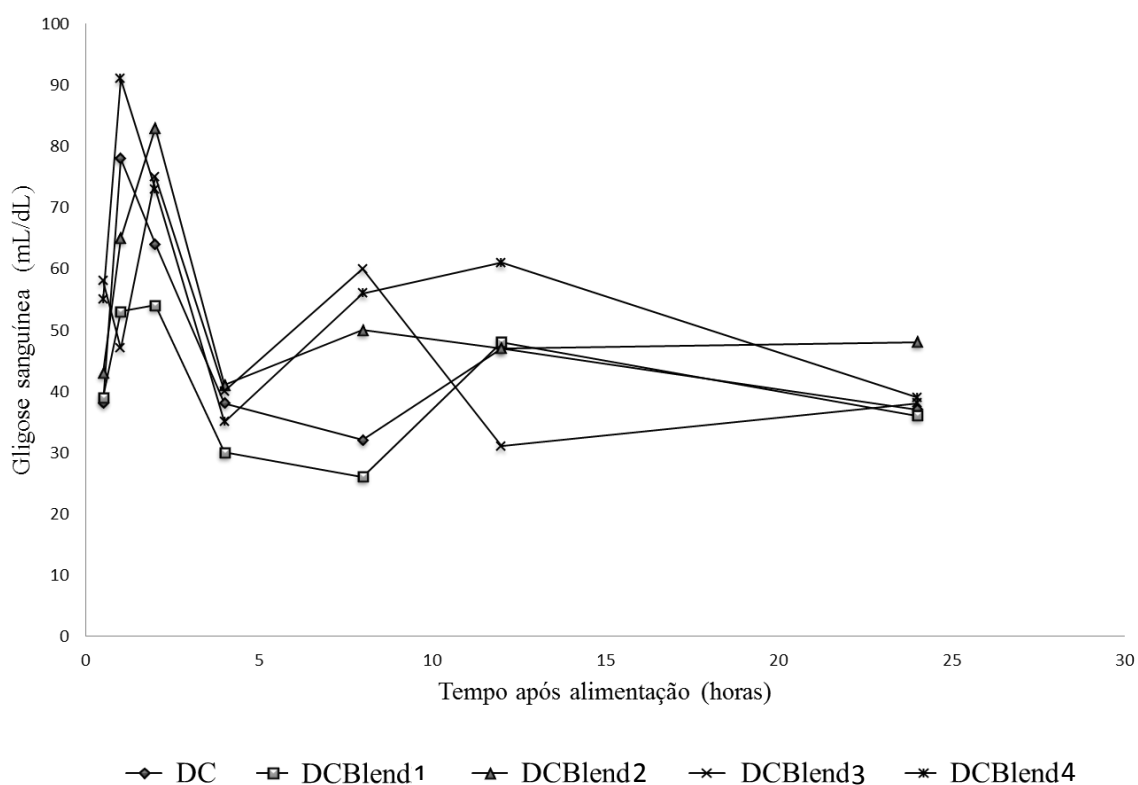


Figura 2 – Curvas glicêmicas de tilápias do Nilo alimentadas com dietas contendo *blend* enzimático, durante 24 horas.

3.2. Taxa de excreção de amônia

A taxa de excreção de amônia ao longo de 24 horas (figura 3) demonstra que nas primeiras 2 horas após alimentação, as tilápias que receberam a dieta DCBlend2 (composta por dieta controle + 100ppm fitase + 400ppm protease) apresentaram o pico mais alto de excreção (16,36 mg/Kg/h de amônia total). Quatro horas após alimentação (período 4h), a concentração mais alta foi observada nas tilápias que receberam a dieta DCBlend4 (Dieta controle + 200ppm fitase + 400ppm protease + 200ppm alfa-amilase). Durante o período 8 (intervalo entre 4 e 8 horas após alimentação), houve uma maior excreção de amônia nos peixes alimentados com as dietas DC e as dietas com *blend* apresentando menor suplementação de protease, DCBlend1 e DCBlend3.

Durante o intervalo de tempo 12 (intervalo entre 8 e 12 horas de coleta), as tilápias alimentadas com dietas contendo suplementação enzimática apresentaram menor excreção de amônia, enquanto os animais da dieta controle apresentaram maior taxa de excreção.

Os níveis de excreção de amônia para os peixes em jejum permaneceram baixos, havendo picos no período 4 (4 horas) e no período 12 (12 horas após entrada nos aquários de coleta). Após 24 horas, não houve diferenças significativas na excreção de amônia das tilápias de acordo com a dieta que receberam.

As proteínas presentes na ração são, em sua maioria, absorvidas pelos peixes como aminoácidos, sendo utilizadas para a produção de tecidos. Cerca de 40 a 83% dos compostos nitrogenados provenientes da digestão e absorção de proteínas são excretados como amônia na maioria dos peixes. Como a amônia é tóxica para permanecer no organismo do animal, e sua conversão em formas menos tóxicas demanda maior gasto energético, a excreção de amônia ocorre, principalmente por difusão (pelas vias paracelular e transcelular) pelas brânquias, mas também pela urina e fezes. (BALDISSEROTTO, 2009).

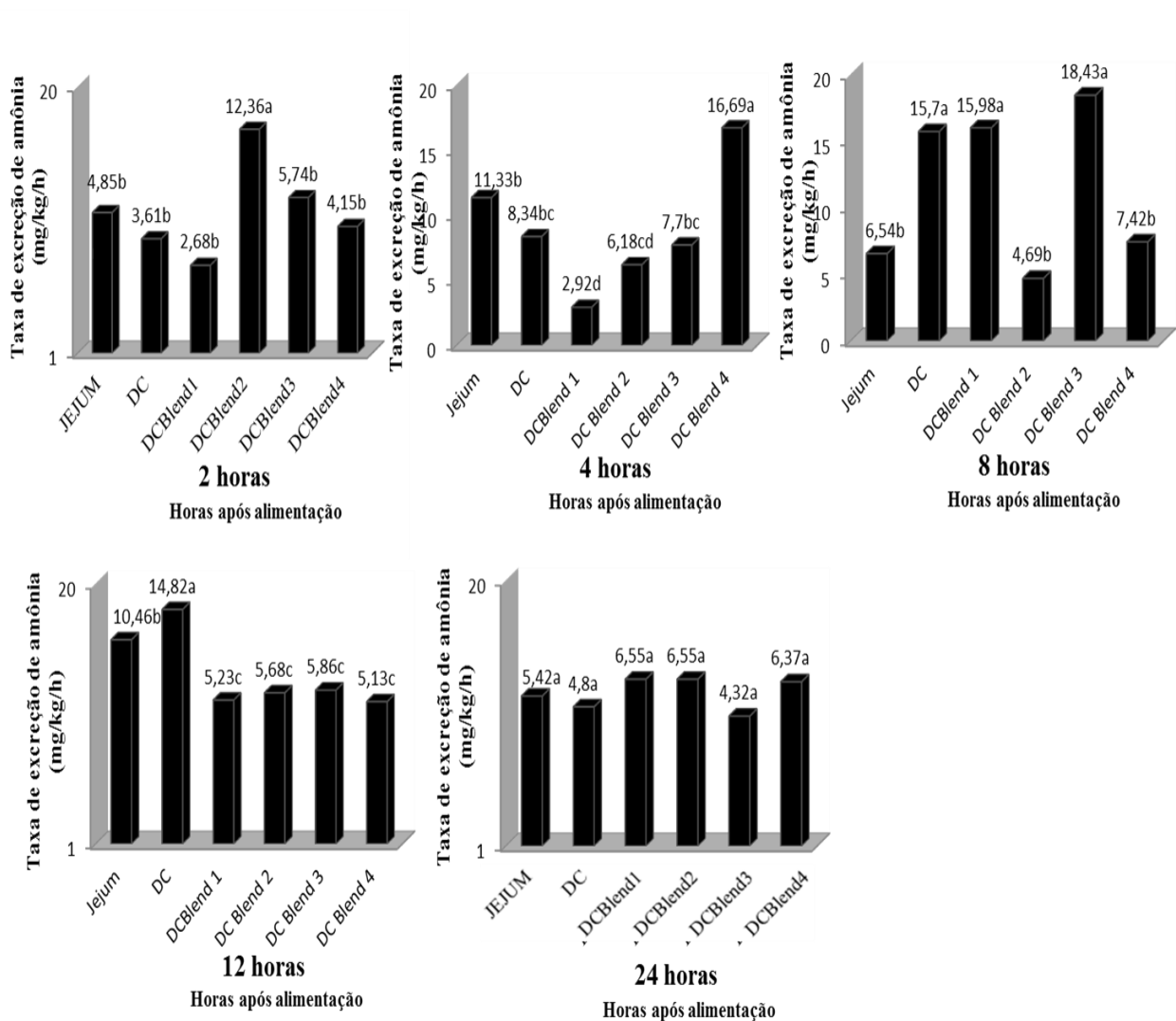


Figura 3 – Taxa de excreção de amônia, em cinco intervalos de tempo ao longo de 24 horas, e tilápias do Nilo alimentadas com dietas contendo *blend* enzimático.

Garcia et al. (2012) avaliando a excreção de amônia em jundiás em diferentes estágios de vida (ovos, larvas e juvenis), constataram que ovos e larvas excretam menos amônio quando comparadas a juvenis, a excreção de amônia nos juvenis diminui gradativamente após 12h de jejum, mas após alimentação estes peixes apresentam altos níveis de excreção.

Neste ensaio foram observados picos de excreção de amônia 2h, 4h e 8h após a alimentação, nas dietas com adição enzimas digestivas. Nas primeiras 2h após a alimentação os peixes do tratamento DCBlend2 (*blend* com 100ppm fitase e 400ppm protease)

apresentaram a maior excreção de amônia. No tempo 4h a maior excreção de amônia foi observada nas tilápias do tratamento DCBlend4 (*blend* com 200ppm fitase, 400ppm protease e 200ppm alfa-amilase). Os dois *blends* enzimáticos continham as maiores quantidades de protease, havendo diferença apenas na inclusão de alfa-amilase no *blend* 4. A diferença no tempo entre os picos de excreção pode ser atribuída ao sinergismo entre enzimas quando adicionadas nas rações como *blends* ou complexos.

Como a amônia é um produto do metabolismo de proteínas, os picos de excreção as 2 e 4 horas pós alimentação podem indicar que a quantidade de protease acelerou a digestão e, consequente absorção deste nutriente pelas tilápias, visto que, as dietas foram formuladas mantendo o mesmo nível proteico. Havendo a possibilidade de fornecer uma dieta com menor nível de proteína bruta e mesma eficiência proteica. Zehra e Khan (2011) relatam que existe alta correlação entre o nível de proteína da dieta consumida e a excreção de amônia.

Às 8h após a alimentação foram observados picos de excreção nas tilápias dos tratamentos DC, DCBlend1 e DCBlend3 implicando que o tempo entre consumo de ração e excreção de metabolitos provenientes do metabolismo proteico foi maior quando comparados aos tratamentos com maior quantidade de protease. Entre 12 e 24 horas após a alimentação não foram observados picos de excreção de amônia. As taxas de excreção de amônia das tilápias em jejum podem ser atribuídas a mobilização e catabolismo dos tecidos corporais para fins de geração de energia.

Pampos juvenis submetidos a dietas com níveis crescentes de proteína bruta na dieta apresentaram picos mais altos de excreção de amônia, após seis horas de coleta, quando alimentados com os maiores níveis (SILVA et al., 2015).

Os aumentos da glicemia e da excreção de amônia com a suplementação de dietas “on top” com enzimas exógenas sugerem avaliar a valorização de dietas para tilápias, assim como ocorre para outras espécies animais, entretanto, a eficiência com que as enzimas valorizam as dietas depende dos níveis de redução nutricional combinados com o tipo e concentração das enzimas no complexo ou *blend* enzimático. Novo estudo deve ser realizado com a finalidade de avaliar a valorização de dietas para tilapias do nilo.

4. CONCLUSÃO

Os níveis de glicose sanguínea e a taxa de excreção de amônia podem ser utilizados como indicadores indiretos da atividade de enzimas digestivas, visto que, foram influenciados pela composição e concentração de enzimas dos *blends* enzimáticos.

5. REFERÊNCIAS

BALDISSEROTTO, B. **Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura**. 2 ed. Santa Maria: Editora da UFSM, 2009.

BEDFORD, M. R.; PARTRIDGE, G. G. **Enzymes in farm animal nutrition**. 2. ed. London: CAB Internationa, 2011.

BISWAS, A.K.; MAITA, M.; YOSHIZAKI, G. AND TAKEUCHI, T. Physiological responses in Nile tilapia exposed to different photoperiod regimes. **Journal of Fish Biology**, v. 65, n. 3, p. 811-821, 2004.

FURUYA, W. M. **Tabelas Brasileiras para a Nutrição de Tilápias**. Toledo: GFM. 100p. 2010.

GARCIA, L. D. O., BRAUN, N., BECKER, A. G., LORO, V. L., BALDISSEROTTO, B. Ammonia excretion at different life stages of silver catfish. **Acta Scientiarum. Animal Sciences**, v. 34, n. 1, p. 15-19, 2012.

KOBAYASHI, S. I., MORITA, T., MIWA, M., LU, J., ENDO, M., TAKEUCHI, T., YOSHIZAKI, G. Transgenic Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) over-expressing growth hormone show reduced ammonia excretion. **Aquaculture**, v. 270, n. 1, p. 427-435, 2007.

KOROLEFF, F. Determination of nutrients. In: GRASSHOFFK, K. **Methods of seawater Analysis**. Germany: Verlag Chemie Weinhein. p.117-187, 1976.

KUBITZA, F. **Tilápia: tecnologia e planejamento na produção comercial**. Jundiaí SP edição do autor, p.19, 2000.

LAM, S. S.; AMBAK, M. A.; JUSOH, A.; LAW, A. T. Waste excretion of marble goby (*Oxyeleotris marmorata Bleeker*) fed with different diets. **Aquaculture**, v.274, p 49-56, 2008.

MAGRI FILHO, S.; PÁDUA, D. M. C.; ARAÚJO, J. G.; SOUTO, C. N.; ULHOA, C. J.; CYSNEIROS, C. S. S.; NASSAR, R. F.; CUNHA, J. M. S. Digestibilidade aparente de dietas contendo complexo enzimático para o tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Agrarian**, v. 8, n. 30, p. 423-430, 2015.

MARENGONI, N. G., WEISS, L. A., ALBUQUERQUE, D. M., MOURA, M. C. Influência de probióticos na prevalência parasitária e níveis de glicose e cortisol em tilápia do Nilo. **Archivos de zootecnia**, v. 64, n. 245, p. 63-69, 2015.

MÔRO, G. V. **Carboidratos em dietas para o dourado *Salminus brasiliensis* (CUVIER, 1816)**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2013.

MOURA, G. S.; LANNA, E. A. T.; FILER, K.; FALKOSKI, D. L.; DONZELE, J. L.; OLIVEIRA, M. G. A.; REZENDE, S. T. Effects of enzyme complex SSF (solid state fermentation) in pellet diets for Nile tilapia. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.41, n.10, p.2139-2143, 2012.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. Porto Alegre: Artmed, 2014.

CAPÍTULO IV

VALORIZAÇÃO DE DIETAS COM PROTEASE, FITASE E ALFA-AMILASE PARA TILÁPIAS DO NILO EM TEMPERATURA SUB-ÓTIMA

VALORIZAÇÃO DE DIETAS COM PROTEASE, FITASE E ALFA-AMILASE PARA TILÁPIAS DO NILO EM TEMPERATURA SUB-ÓTIMA

Resumo: Temperaturas abaixo da zona de conforto (sub-ótimas) diminuem a atividade metabólica do organismo o que pode ocasionar perdas no crescimento e desenvolvimento dos peixes. Melhorar a disponibilidade nutricional pode favorecer os índices produtivos. Objetivou-se com este trabalho, avaliar a suplementação com *blend* enzimático (200 ppm de fitase, 400 ppm de protease e 200ppm de alfa-amilase), em dietas com redução nutricional sobre desempenho e composição físico-química corporal de tilápias mantidas em temperatura sub-ótima ($23,15 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$). O experimento foi conduzido na UFPB/CCHSA por um período de 60 dias. Foram utilizados 260 alevinos machos de tilápia do Nilo, pós-indução sexual, distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado com quatro tratamentos e cinco repetições. Sendo DC (dieta controle), DCEE (dieta controle com *blend* enzimático), DV1EE (redução em 1,32% de PB e ED + *blend* enzimático) e DV2EE (redução em 2,64% de PB e ED + *blend* enzimático). Foram avaliados os parâmetros de desempenho e composição físico-química da carcaça. A suplementação enzimática com 200ppm de fitase, 200ppm de alfa-amilase e 400ppm de proteína foi eficiente em disponibilizar nutrientes suprindo um déficit de até 2,64% de energia e proteína na dieta das tilápias submetidas a temperaturas sub-ótima,

Palavras-chave: Aditivos alimentares; Baixas temperaturas; Enzimas digestivas

VALORIZATION OF DIETS WITH PROTEASE, PHYTASE AND ALPHA-AMYLASE FOR NILE TILAPS AT SUB-GREAT TEMPERATURE

Abstract: Temperatures below the comfort zone (sub-optimal) decrease the metabolic activity of the organism which can cause losses in fish growth and development. Improving nutritional availability can favor productive rates. The objective of this work was to evaluate the enzyme blend supplementation (200 ppm of phytase, 400 ppm of protease and 200 ppm of alpha-amylase) in diets with nutritional reduction on performance and physical and chemical composition of tilapia kept at sub-temperature (23.15 ± 0.2 ° C). The experiment was conducted at the UFPB / CCHSA for a period of 60 days. A total of 260 male Nile tilapia fingerlings, sexually induced, were distributed in a completely randomized design with four treatments and five replicates. The control diet, DCEE (control diet with enzyme blend), DV1EE (reduction of 1.32% of PB and ED + enzyme blend) and DV2EE (reduction of 2.64% of PB and ED + enzyme blend). The parameters of performance and physicochemical composition of the carcass were evaluated. The enzymatic supplementation with 200 ppm of phytase, 400 ppm of protease and 200 ppm of alpha-amylase was efficient in providing nutrients supplying a deficit of up to 2.64% of energy and protein in the diet of tilapia submitted to sub-optimal temperatures.

Keywords: Food additives; Low temperatures; Digestive enzymes

1. INTRODUÇÃO

A qualidade da água tem importância primordial para a eficiência de um sistema de produção de organismos aquáticos. Estando intimamente relacionada com a saúde, funções fisiológicas, crescimento e aspectos qualitativos do pescado produzido (CYRINO et al., 2010).

Alguns sistemas de produção não permitem intervenção humana efetiva sobre os aspectos físico-químicos da água. A qualidade da água em sistemas de produção em tanques-rede depende das características do corpo da água no qual está instalado (BOYD, 2010). Em viveiros escavados pode haver variações térmicas elevadas ao longo do dia (MERCANTE et al., 2007).

A maioria das espécies de peixes catalogadas são ectotérmicos, ou seja, tem sua temperatura corpórea diretamente regulada pela temperatura da água (BEITINGER et al., 2000). No entanto, quando a temperatura não está na zona de conforto térmico do animal, este tende a priorizar a busca pela homeostase. Quando o estresse térmico é intenso ou duradouro, pode gerar respostas adaptativas que vão desde ajustes fisiológicos à imunossupressão e diminuição do crescimento e desenvolvimento dos peixes (BARTON, 2002).

As tilápias são tolerantes a uma diversidade de fatores ambientais como mudanças no pH, temperatura, concentração de oxigênio dissolvido na água e concentrações de amônia (DEEN et al., 2010). Mas, sobreviver em condições adversas não confere recursos para que a espécie expresse seu potencial genético em crescimento e desenvolvimento corporais.

Temperaturas abaixo ou no limite mínimo da zona de conforto térmico dos peixes, ou seja, temperaturas sub-ótimas diminuem a atividade metabólica do organismo, fator que pode ser expressando com menor consumo de ração, baixo ganho em peso, menor comprimento padrão e piora na conversão alimentar, nesse contexto, a temperatura que possibilitou maior ganho em peso e melhor conversão alimentar de tilápias mantidas em quatro temperaturas (20, 24, 28 e 32°C) se manteve entre 28°C e 32°C (MOURA et al., 2007).

A utilização de aditivos enzimáticos nas rações para peixes mantidos em temperaturas dentro da zona de conforto térmico para a espécie, tem demonstrado resultados positivos quanto ao aumento do coeficiente de digestibilidade de rações formuladas com ingredientes que apresentam teor elevado de polissacarídeos não amiláceos para tilápias do Nilo (TACHIBANA et al., 2010), a redução de fatores antinutricionais em dietas para jundiá

(PRETTO et al. 2017), promove melhor conversão alimentar no híbrido tambacu (MARTINS et al., 2016) e aumenta o peso final e ganho em peso de juvenis de tilápia (MOURA et al., 2012).

A utilização de *blends* enzimáticos contendo protease e amilase podem auxiliar as enzimas endógenas na digestão da proteína e amido presentes na ração viabilizando maior eficiência digestiva e, conseqüentemente, melhor absorção destes nutrientes. Guimarães et al., (2009) destacam que existe uma relação forte e positiva entre a inclusão de um complexo enzimático contendo protease e o aumento do coeficiente de digestibilidade aparente da proteína, atribuindo essa relação a uma maior interação enzima-substrato e a digestão eficiente de outros nutrientes como carboidratos e lipídios associados à disponibilidade da proteína na ração.

A adição de enzimas as dietas de animais aquáticos pode potencializar a digestão dos alimentos vegetais e, aumentar assim a disponibilidade dos nutrientes após a passagem do alimento pelo trato gastrointestinal e melhorar o desempenho de espécies onívoras como as tilápias do Nilo. Objetivou-se com este trabalho, avaliar a suplementação com *blend* enzimático composto por fitase, protease e amilase em dietas com redução nutricional sob o desempenho e composição físico-química corporal de tilápias do Nilo mantidas em temperatura sub-ótima.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Aquicultura do Centro de Ciências Humanas, Sociais e Agrárias – CCHSA da Universidade Federal da Paraíba, Bananeiras – PB, por um período de sessenta dias. Foram utilizados 260 alevinos machos de tilápia do Nilo, pós-indução sexual, com peso $1,12 \pm 0,002\text{g}$, distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado, com quatro tratamentos e cinco repetições. As instalações experimentais consistiam em um sistema de recirculação fechada, com filtro mecânico e biológico, bomba de sucção, reservatório (1000 litros), dez caixas d'água (310 litros) e vinte gaiolas de tela, consideradas como unidade experimental. Este estudo faz parte de um projeto que foi submetido para avaliação do Comitê de Ética no uso de animais da Universidade Federal da Paraíba (CEUA-UFPB), sendo aprovado com o protocolo nº 057/2016.

As dietas experimentais 1 (DC = dieta controle, sem adição de enzimas) e 2 (DCEE = dieta controle + blend enzimático) foram formuladas seguindo as recomendações de Furuya (2010), com 30% de proteína bruta (%) e 3000 kcal de energia bruta/kg. A dieta valorizada 1 (DV1EE) foi formulada obedecendo uma redução proteica e energética de 1,32% e a dieta valorizada 2 (DV2EE) foi elaborada seguindo uma redução de 2,64% em relação a dieta referência (Tabela 1). Os ingredientes foram triturados, pesados, misturados (misturador “Y” USIBRAS®), as rações foram peletizadas (peletizadora CHAVANTE®) e armazenadas sobre refrigeração.

Nas dietas DCEE, DV1EE e DV2EE foi adicionado o *blend* enzimático formulado mediante associação de três enzimas digestivas inseridas nas seguintes proporções: 400ppm de protease, 200ppm de alfa-amilase e 200ppm fitase.

Os peixes foram alimentados quatro vezes por dia (8:00h; 11:00h; 14:30h e 17:00h) seguindo uma taxa de arraçoamento de 10% da biomassa, obtida através de biometrias quinzenais. Após último fornecimento diário de ração, foi realizada a limpeza de resíduos sólidos e renovação de 5% da água no sistema. Diariamente, o pH, oxigênio dissolvido e temperatura foram monitorados com auxílio de peagâmetro (HANNA®) e Oxímetro/termômetro (ICEL®). Semanalmente foi quantificada a amônia total e NH_3 no sistema de recirculação.

Ao final do experimento as tilápias foram submetidas a 12 horas de jejum para esvaziamento completo do trato digestório, posteriormente, dez peixes por unidade experimental foram insensibilizados por imersão em gelo, abatidos, pesados e medidos para avaliação dos seguintes parâmetros: peso final; ganho em peso: $\text{GP} = (\text{peso final}) - (\text{peso inicial})$; CR = Consumo de ração; Conversão alimentar: $\text{CA} = (\text{consumo de ração}) \div (\text{ganho de peso})$; CTF = Comprimento total final (medido do focinho ao final da nadadeira caudal); GCT = Ganho em comprimento total; CPF = Comprimento padrão final (medido do focinho ao início da nadadeira caudal); GCF = Ganho em comprimento final; ALT = Altura (medida à frente do 1º raio da nadadeira dorsal); LAG = Largura (medida à frente do 1º raio da nadadeira dorsal) e Taxa de crescimento específico (TCE) = $[(\text{In peso final} - \text{In peso inicial}) \div \text{tempo}] \times 100$.

Tabela 1- Composição alimentar e nutricional das dietas experimentais

Ingredientes (Kg)	Dietas experimentais (%) ¹			
	DC	DCEE	DV1EE	DV2EE
Farelo de soja 45%	54,00	54,00	52,86	51,65
Milho	37,00	37,00	38,44	40,26
Farinha de peixes 55%	3,500	3,500	3,500	3,500
Fosfato bicálcico	1,270	1,270	1,230	1,190
Óleo de soja	1,250	1,250	0,745	0,140
Calcário	1,840	1,840	2,080	2,120
Premix vitamínico e mineral ²	0,500	0,500	0,500	0,500
Sal	0,300	0,300	0,300	0,300
Dl-metionina	0,200	0,200	0,200	0,200
Vitamina C	0,006	0,006	0,006	0,006
BHT	0,020	0,020	0,020	0,020
Inerte	0,100	0,020	0,020	0,020
Produto comercial Protease ³	-	0,040	0,040	0,040
Produto comercial Fitase ⁴	-	0,020	0,020	0,020
Produto comercial Alfa-amilase ⁵	-	0,020	0,020	0,020
	100,0	100,0	100,0	100,0
COMPOSIÇÃO NUTRICIONAL (%)				
Energia digestível (Mcal/Kg)	3.036	3.036	29.960	29.560
Proteína bruta	30,00	30,00	29,60	29,20
Matéria seca	89,07	89,07	89,01	88,92
Cálcio	1,100	1,100	1,500	1,500
Cinzas	7,880	7,880	8,510	8,470
Fosforo total	1,060	1,060	0,760	0,750
Lisina total	1,880	1,880	1,850	1,820
Metionina total	0,520	0,520	0,630	0,630
Sódio	0,190	0,190	0,190	0,190
Treonina total	1,180	1,180	1,120	1,130
Vitamina C (mg/Kg)	0,060	0,060	0,060	0,060

¹ DC = dieta controle, DCEE = DC + enzimas exógenas, DV1EE = dieta valorizada 1 com redução de 1,32% de PB e energia digestível + enzimas exógenas, e DV2EE = dieta valorizada com redução de 2,64% de PB e energia digestível + enzimas exógenas. ²Níveis de garantia por quilograma do produto: Vit. A, 500.000UI; Vit. D3, 200.000UI; Vit. E, 5.000mg; Vit. K3, 1.000mg; Vit. B1, 1.500mg; Vit. B2, 1.500mg; Vit. B6, 1.500mg; Vit. B12, 4.000mg; Ác. Fólico, 500mg; Pantotenato Ca, 4.000mg; Vit. C, 15.000mg; Biotina, 50mg; Inositol, 10.000; Nicotinamida, 7.000; Co, 10mg; Cobre, 500mg; Fe, 5.000mg; I, 50mg; Mn, 1500mg; Se, 10mg; Zn, 5.000mg. ³Níveis de garantia : Níveis de garantia: 500 PROT/Kg. ⁴1000 FYT/Kg. ⁵Níveis de garantia: 60 KNU/Kg.

Para avaliação físico-química, cinco peixes inteiros foram triturados e homogeneizados gerando uma amostra composta por unidade experimental. A composição das tilápias foi obtida utilizando-se a metodologia descrita pela Association of Official Analytical Chemistry – AOAC (2000), sendo realizadas em triplicata ao teor de umidade (%), cinzas (%), lipídeos totais (%) e proteína bruta (%).

Os dados obtidos foram analisados pelo teste F e, em caso de diferenças significativas as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Duncan ($P < 0,05$).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores médios de pH, oxigênio dissolvido, amônia total e NH_3 foram, respectivamente, $7,32 \pm 0,28$; $7,036 \pm 0,22$ (mg/L); $0,625 \pm 0,37$ (ppm); $0,0115 \pm 0,006$; permanecendo dentro da faixa aceitável para o bom desempenho da espécie, segundo recomendações de Kubitza (2004). A temperatura média, $23,15 \pm 0,22$ permaneceu abaixo ou no limiar mínimo da zona de conforto térmico para peixes tropicais. Durante o período experimental (sessenta dias) não foram observadas mortes.

Os parâmetros de desempenho não foram influenciados pela redução nutricional ou pela adição do *blend* enzimático (Tabela 2). O peso final variou entre 13,70g e 14,31g; o ganho em peso variou entre 13,18g nas tilápias alimentadas com a dieta DCEE e 12,58g para as que receberam dieta sem inclusão das enzimas (DC). O consumo de ração permaneceu entre 25,04g e 23,98g.

A conversão alimentar em todos os tratamentos permaneceu acima do esperado para a espécie em sistema de produção intensivo, onde a única fonte de alimento disponível é a ração. A taxa de crescimento específico não foi influenciada pela redução nutricional quando as dietas foram suplementadas com protease, fitase e amilase, no entanto, estão abaixo dos obtidos para tilápias do Nilo mantidas em temperaturas dentro da zona de conforto térmico para a espécie. Brol et al. (2017) ao estudarem o desempenho de tilápias do Nilo em sistema de bioflocos com temperatura da água de 28°C, observaram que a TCE foi em média 4,51 %/dia.

Tabela 2 – Peso inicial (PI), peso final (PF), ganho em peso (GP), consumo de ração (CR), conversão alimentar (CA) e taxa de crescimento específico (TCE) de juvenis de tilápia do Nilo alimentadas com dietas contendo enzimas exógenas¹.

Dietas ²	PI (g)	PF (g)	GP (g)	CR (g)	CA (g)	TCE (%/dia)
DC	1,116 ^a	13,705 ^a	12,588 ^a	23,98 ^a	1,90 ^a	4,17 ^a
DCEE	1,123 ^a	14,312 ^a	13,189 ^a	25,04 ^a	1,89 ^a	4,24 ^a
DCV1EE	1,125 ^a	13,898 ^a	12,773 ^a	24,32 ^a	1,90 ^a	4,18 ^a
DCV2EE	1,134 ^a	13,800 ^a	12,675 ^a	24,16 ^a	1,91 ^a	4,16 ^a
CV(%)	2,23	4,12	4,49	4,12	1,42	1,90

¹ Médias na mesma coluna seguidas de letras distintas diferem ($P \leq 0,05$) pelo teste de Duncan. ²DC = dieta controle, DCEE = DC + enzimas exógenas, DV1EE = dieta valorizada 1 com redução de 1,32% de PB e energia digestível + enzimas exógenas, e DV2EE = dieta valorizada com redução de 2,64% de PB e energia digestível + enzimas exógenas.

O efeito obtido para os parâmetros de desempenho avaliados pode indicar que, mesmo em baixas temperaturas, a suplementação enzimática foi eficiente em melhorar a digestão de dietas com redução nutricional, no entanto, não foi observado mesmo comportamento para a dieta “on top” com adição de enzimas (DCEE), visto que, não houve diferença significativa quando comparada com a dieta “on top” sem enzimas digestivas (DC).

Moura et al. (2012) em experimento avaliando a eficiência de um complexo enzimático SFF composto por protease, fitase, lipase e carboidrase sob parâmetros de desempenho de tilápias do Nilo mantidas em condições ótimas de temperatura da água 28°C, obtiveram melhor conversão alimentar (variando entre 1,11 e 1,23) quando comparadas as obtidas no presente estudo.

As enzimas digestivas são específicas quanto ao pH, substrato no qual atuam (PRETTO et al., 2017) e temperatura (SILVA et al., 2017). A eficiência digestiva das enzimas, tanto de produção endógena quanto as adicionadas de forma unitária, em *blends* ou complexos enzimáticos em rações para tilápias, pode diminuir quando sua especificidade não é respeitada.

Moura et al. (2007), ao avaliarem o desempenho e atividade enzimática da amilase em tilápias do Nilo submetidas a quatro condições de temperatura, sendo 20, 24, 28 e 32°C durante 55 dias, constataram que o consumo de ração, peso final e ganho em peso diminuíram linearmente com a diminuição da temperatura da água. As tilápias mantidas em ambiente com temperatura média de 20°C ganharam 2,30g de peso, em contrapartida, as que permaneceram em ambiente com 32°C de temperatura ganharam em média 47,75g. A atividade da amilase apresentou efeito linear, diminuindo conforme a temperatura diminuiu, demonstrando que a temperatura do meio interfere na velocidade das reações catalisadas pela enzima.

As medidas morfométricas comprimento total final e ganho em comprimento total não foram influenciadas pela suplementação enzimática ou pela redução energética e proteica com adição do *blend* de protease, amilase e fitase (tabela 3).

Tabela 3 – Comprimento total final (CTF), ganho em comprimento total (GCT), comprimento padrão final (CPF), altura final (AF), ganho em altura (GA), largura final (LAF) e ganho em largura (GLA) de juvenis de tilápia do Nilo alimentadas com dietas contendo enzimas exógenas¹.

Dietas ²	CTF (cm)	GCT (cm)	CPF (cm)	AF (cm)	GA (cm)	LAF (cm)	GLA (cm)
DC	8,63 ^a	5,18 ^a	6,81 ^b	2,35 ^a	1,50 ^a	1,022 ^a	0,722 ^a
DCEE	8,74 ^a	5,29 ^a	6,99 ^a	2,38 ^a	1,53 ^a	1,038 ^a	0,738 ^a
DV1EE	8,74 ^a	5,29 ^a	6,90 ^{ab}	2,28 ^a	1,43 ^a	1,014 ^a	0,714 ^a
DV2EE	8,73 ^a	5,28 ^a	6,89 ^{ab}	2,29 ^a	1,44 ^a	1,000 ^a	0,700 ^a
CV(%)	1,60	2,66	1,73	3,70	5,82	3,03	4,29

¹ Médias na mesma coluna seguidas de letras distintas diferem ($P \leq 0,05$) pelo teste de Duncan. ²DC = dieta controle, DCEE = DC + enzimas exógenas, DV1EE = dieta valorizada 1 com redução de 1,32% de PB e energia digestível + enzimas exógenas, e DV2EE = dieta valorizada com redução de 2,64% de PB e energia digestível + enzimas exógenas.

Quando as dietas sem redução nutricional foram comparadas, as tilápias que receberam a dieta DCEE (com adição enzimática) apresentaram maior comprimento padrão final (6,99cm), enquanto as tilápias que foram alimentadas com a dieta controle estavam medindo em média 6,81 cm. Entre as dietas com suplementação enzimática, não houve diferença para o parâmetro avaliado. O mesmo ocorreu entre as dietas DV1EE, DV2EE e a dieta DC (“on top” sem adição do *blend* enzimático).

Os parâmetros altura final (cm), ganho em altura final (cm), largura final e ganho em largura não foram influenciados ($p < 0,05$) pela suplementação enzimática com ou sem redução nutricional. Apesar da inclusão de enzimas, aparentemente possibilitar maior disponibilidade de nutrientes para absorção pelos peixes, visto que, as reduções energéticas e proteicas não influenciaram as medidas morfométricas. Em temperatura sub-ótima, as tilápias apresentaram crescimento reduzido.

Massago, et al. (2010) avaliando o crescimento de quatro linhagens de tilápia do Nilo durante 112 dias, em temperatura de 26°C, obtiveram resultados para comprimento padrão aos 56 dias superiores aos apresentados pelas tilápias do presente estudo. De acordo com a linhagem, o comprimento padrão permaneceu entre 8,57 cm (linhagem Bouaké) a 9,46cm (linhagem Supreme).

O ganho em comprimento padrão (Figura 1) não apresentou efeito significativo para os tratamentos valorizados com o *blend* enzimático, com ou sem reduções nutricionais (CV% 2,87). Quando as dietas “on top” foram comparadas, a suplementação enzimática foi eficiente em melhorar o ganho em comprimento padrão, onde as tilápias alimentadas com a dieta DCEE obtiveram 4,24cm e as que receberam a dieta DC mediram 4,06 cm.

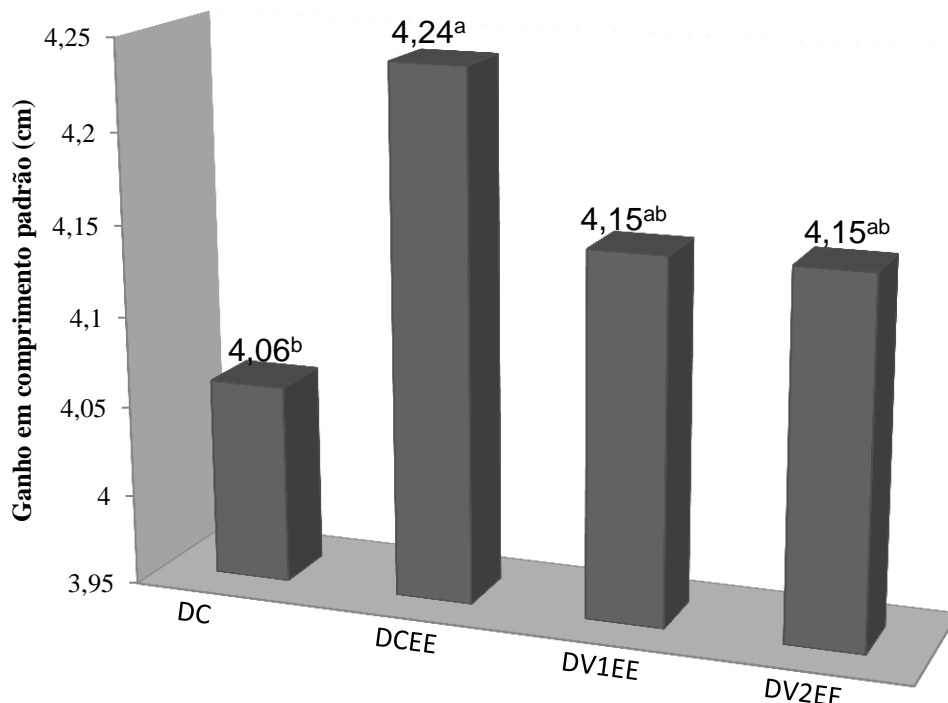


Figura 1 – Ganho em comprimento padrão (cm) de tilápias do Nilo, alimentadas com dietas valorizadas com *blend* enzimático.

A suplementação com as enzimas fitase, protease e amilase pode promover uma rápida disponibilidade de nutrientes essenciais para a formação do esqueleto, musculatura e tecido de reserva. No entanto, as porcentagens de umidade, cinzas, lipídeos totais e proteína bruta dos juvenis de tilápia não sofreram alterações significativas ($p < 0,05$) mediante inclusão do *blend* enzimático e redução ou não de nutrientes da dieta (Tabela 4).

Tabela 4 – Composição físico-química de juvenis de tilápia do Nilo alimentadas com dietas contendo enzimas exógenas¹.

Dietas ²	Umidade (%)	Cinzas (%)	Lipídeos totais (%)	Proteína bruta (%)
DC	75,27 ^a	9,75 ^a	38,17 ^a	55,2 ^a
DCEE	75,17 ^a	9,60 ^a	40,65 ^a	57,34 ^a
DV1EE	76,77 ^a	9,89 ^a	39,18 ^a	56,00 ^a
DV2EE	75,66 ^a	10,17 ^a	38,66 ^a	57,89 ^a
CV(%)	2,10	5,35	3,81	3,45

¹ Médias na mesma coluna seguidas de letras distintas diferem ($P \leq 0,05$) pelo teste de Duncan. ²DC = dieta controle, DCEE = DC + enzimas exógenas, DV1EE = dieta valorizada 1 com redução de 1,32% de PB e energia digestível + enzimas exógenas, e DV2EE = dieta valorizada com redução de 2,64% de PB e energia digestível + enzimas exógenas.

Os resultados obtidos corroboram com Adeoye et al. (2016), que ao avaliar a suplementação unitária de fitase, protease e carboidrases em dietas para tilápia do Nilo, não encontraram diferenças para umidade, lipídeos e cinzas do animal inteiro

Em outras espécies onívoras como o peixe Kinguio, Signor et al. (2013) não observaram influencia de enzimas exógenas na composição corporal do animal inteiro. Signor et al. (2010), avaliando a eficiência de um complexo enzimático (composto por amilase, protease, celulase, lipase, pectinase, xilanase, β -glucanase e fitase) sobre o desempenho de tilápias do Nilo mantidas em temperatura média de 24,5°C, não observaram diferenças para umidade, proteína bruta e material mineral na carcaça.

4. CONCLUSÃO

A suplementação de dietas com redução de 2,65% de PB e EMA, com 400ppm de protease, 200ppm de alfa-amilase e 200ppm fitase é eficiente em promover o desempenho de tilápias produzidas em ambiente com temperatura média sub-ótima (23°C).

5. REFERENCIAS

ADEOYE, A. A., JARAMILLO-TORRES, A., FOX, S. W., MERRIFIELD, D. L., & DAVIES, S. J. Supplementation of formulated diets for tilapia (*Oreochromis niloticus*) with selected exogenous enzymes: Overall performance and effects on intestinal histology and microbiota. **Animal Feed Science and Technology**, v. 215, p. 133-143, 2016.

BARTON, B. A. Stress in fishes: a diversity of responses with particular reference to changes in circulating corticosteroids. **Integrative and comparative biology**, v. 42, n. 3, p. 517-525, 2002.

BEITINGER, T. L.; BENNETT, W. A.; MCCAULEY, R. W. Temperature tolerances of North American freshwater fishes exposed to dynamic changes in temperature. **Environmental biology of fishes**, v. 58, n. 3, p. 237-275, 2000.

BOYD, C. E. Cage design, placement affect water quality. **Global Aquaculture Advocate**, v. 13, n 3, p. 21-22, 2010.

BROL, J., PINHO, S. M., SGNAULIN, T., PEREIRA, K. D. R., THOMAS, M. C., DE MELLO, G. L., MIRANDA-BAEZA, A., EMERENCIANO, M. G. C. Tecnologia de bioflocos (BFT) no desempenho zootécnico de tilápias: efeito da linhagem e densidades de estocagem. **Archivos de zootecnia**, v. 66, n. 254, p. 229-235, 2017.

CYRINO, J. E. P.; BICUDO, A. J. A.; SADO, R. Y.; BORGHESI, R.; DAIRIKI, J. K. A piscicultura e o ambiente – o uso de alimentos ambientalmente corretos em piscicultura. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, p.68-87, 2010.

DEEN, A. I. E. N., ZAKI, M. Impact of climatic change (oxygen and temperature) on growth and survival rate of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*). **Report and Opinion**, v. 2, p. 192-195, 2010.

FURUYA, W. M. **Tabelas Brasileiras para a Nutrição de Tilápias**. Toledo: GFM. 100p. 2010.

GUIMARÃES, I. G.; FALCON, D. R.; SCHICH, D.; BARROS, M. M.; PEZZATO, L. E. Digestibilidade aparente de rações contendo complexo enzimático para tilápia-do-nilo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.61, n.6, p.1397-1402, 2009.

MARTINS, M. G., DE SOUZA MOURA, G., FERREIRA, T. A., FERREIRA, A. L., SANTOS, T. G., PEDREIRA, M. M. Inclusão de complexo enzimático ssf em rações para juvenis de tambacu. **Archives of Veterinary Science**, v. 21, n. 1, 2016.

MASSAGO, H., CASTAGNOLLI, N., MALHEIROS, E. B., KOBERSTEIN, T. C. R. D., DOS SANTOS, M. A.; RIBEIRO, R. P. Crescimento de quatro linhagens de tilápia *Oreochromis niloticus*. **Revista Acadêmica: Ciência Animal**, v. 8, n. 4, 2010.

MERCANTE, C. T. J., MARTINS, Y. K., DO CARMO, C. F., OSTI, J. S., PINTO, C. S. R. M., TUCCI, A. Qualidade da água em viveiro de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*): caracterização diurna de variáveis físicas, químicas e biológicas, São Paulo, Brasil. **Bioikos**, v. 21, n. 2, 2007.

MOURA, G. S., OLIVEIRA, M. G. A., LANNA, E. T. A., MACIEL JÚNIOR, A., MACIEL, C. M. R. R. Desempenho e atividade de amilase em tilápias-do-nilo submetidas a diferentes temperaturas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 42(11), 1609-1615. 2007.

MOURA, G.S.; LANNA, E.A.T.; FILER, K.; FALKOSKI, D.L.; DONZELE,J.L.; OLIVEIRA, M.G.A.; REZENDE, S.T. Effects of enzyme complex SSF (solid state fermentation) in pellet diets for Nile tilapia. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.41, n.10, p.2139-2143, 2012

PRETTO, A., DA SILVA, L. P., DA VEIGA, M. L., MACEDO, G. A., ROSSATO, S., KLINGER, A. C. K. Tratamento enzimático em farelo de crame e aplicação em dietas para *Rhamdia quelen*. **Caderno de Ciências Agrárias**, v. 9, n. 1, p. 62-74, 2017.

SIGNOR, A. A.; BOSCOLO, W.R.; BITTENCOURT, F.; FEIDEN, A.; GONÇALVES, G.S.; FREITAS, J.M.A. Desempenho de juvenis de Tilápia-do-nilo alimentados com rações contendo complexo enzimático. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.5, p.977-983, 2010.

SIGNOR, A.A.; LUCHESI, J.D.; COSTA, J.M.; FRIES, E.M.; ALTEVIR SIGNOR, A.; FEIDEN, A.; BOSCOLO, W.R. Complexo enzimático na dieta de alevinos de kinguio (*Carassius auratus*). **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 3, p. 1381-1388, 2013.

SILVA, E. T. L. D., PEDREIRA, M. M., DIAS, M. L. F., TESSITORE, A. J. D. A., FERREIRA, T. A. Larvas de linhagens de tilápia do Nilo submetidas à frequências alimentares sob baixa temperatura. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v. 18, n. 1, p. 193-203, 2017.

TACHIBANA, L.; PINTO, L. G. Q.; GONÇALVES, G. S.; PEZZATO, L. E. Xilanase e β -glucanase na digestibilidade aparente de nutrientes do triticales pela Tilápia-do-nilo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.62, n.2, p.445-452, 2010.

CAPÍTULO V

ENZIMAS EXÓGENAS NA ALIMENTAÇÃO DO PEIXE GUPPY (*Poecilia reticulata*)¹

¹ Artigo publicado na revista Archives of Veterinary Science. v.22, n.3, p.24-29, 2017.

ENZIMAS EXÓGENAS NA ALIMENTAÇÃO DO PEIXE GUPPY (*Poecilia reticulata*)

(Exogenous enzymes in food fish guppy Poecilia reticulata)

Veruska Dilyanne Silva Gomes, José Humberto Vilar da Silva, Cácio Ribeiro Cavalcanti, Mário Cesar de Lima, José Jordão Filho, Alda Lúcia de Lima Amâncio

RESUMO: O mercado do peixe ornamental exige um animal com tamanho adequado em um período curto de produção, para atender as exigências nutricionais estratégias devem ser implantadas, como a utilização de enzimas exógenas nas rações. A pesquisa foi desenvolvida com o objetivo de avaliar a influencia da suplementação enzimática no desempenho do peixe ornamental guppy. Foram testadas duas dietas, sendo uma suplementada com as enzimas exógenas protease, fitase e alfa-amilase. Foram avaliados: o peso final, ganho de peso, conversão alimentar, comprimento total e padrão, ganho em comprimento total e padrão, altura, largura, taxa de crescimento específico; taxa de desenvolvimento específico e fator de condição de Fulton. A suplementação enzimática influenciou de maneira positiva o crescimento e desenvolvimento dos peixes ornamentais guppys.

Palavras-chave: Aquariorfilia, lebiste, piscicultura ornamental

ABSTRACT: The ornamental fish market requires an animal with adequate size in a short period of production, to meet the nutritional requirements strategies should be implemented , such as the use of exogenous enzymes in diets . The research was conducted in order to evaluate the influence of enzyme supplementation on performance ornamental guppy fish. Two diets were tested, one supplemented with exogenous enzymes protease, phytase and alpha amylase. Were evaluated: body weight, weight gain, feed conversion, length complete and standard, gain in total and standard length, height, width , specific growth rate ; Specific development rate and Fulton condition factor . Enzyme supplementation influenced positively the growth and development of guppys ornamental fish.

Keywords: Aquariums, lebiste, ornamental fish

1. INTRODUÇÃO

Para a sustentabilidade da produção de peixes ornamentais, tecnologias devem ser empregadas visando possibilitar menor tempo de cultivo e redução de impactos ambientais causados pela eutrofização da água; fatores diretamente proporcionais à produção de rações com alta digestibilidade, palatabilidade e formas físicas que atendem a necessidade da espécie em todos os seus estágios de vida (Zuanon et al., 2011).

Este sistema de produção deve atender as exigências de mercado, fornecendo um animal com tamanho adequado em um período curto de produção. Para isso, Estratégias como manejo alimentar (SANTOS, et. al., 2014) e inclusão de aditivos, como as enzimas digestivas, nas rações podem ser utilizadas.

O peixe ornamental guppy (*Poecilia reticulata*) é um animal de pequeno porte; vivíparo; apresenta dimorfismo sexual, sendo as fêmeas são mais altas e os machos

apresentando corpo alongado, intensa pigmentação, nadadeira caudal com maior comprimento e órgão copulador chamado gonopódio (Munakata e Kobayashi, 2010).

Estes peixes são amplamente produzidos e comercializados no cenário ornamental, no entanto, pesquisas relacionadas a espécie estão concentradas principalmente em ensaios de toxicidade (Boock e Machado Neto, 2005), bioindicadores ambientais (Souza et. al., 2013), produção em água de reuso (Santos et. al., 2015), comportamento reprodutivo (Weinstein e Zimmer, 2015) e no combate as larvas do *Aedes aegypti* (Cavalcanti et. al., 2007); pesquisas relacionadas a nutrição e alimentação da espécie ainda são escassas. Mediante o exposto, o trabalho foi desenvolvido com o objetivo de avaliar a influencia da suplementação enzimática no desempenho do peixe ornamental guppy.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido no Laboratório de Aquicultura da Universidade Federal da Paraíba, no município de Bananeiras-PB, por um período de 35 dias.

Foram utilizados 27 alevinos de guppy com peso inicial de $0,0183 \pm 0,0018$ g e comprimento total inicial 0,9 cm; distribuídos em aquários de vidro com capacidade para 2 litros. Sendo, dois tratamentos com três repetições.

Os peixes foram alimentados as 8:00hs, 11:30hs, 14:30hs e 17:00hs, até saciedade aparente dos animais. Todos os dias era realizada a renovação de 60% da água dos aquários, com retirada de fezes e resíduos por meio de sifonamento; e renovação total da água com lavagem dos aquários semanalmente. As dietas experimentais foram formuladas visando conter 30% de proteína bruta e 3000 kcal/kg de energia digestível (tabela 1), na dieta contendo enzimas exógenas foram adicionadas as seguintes enzimas: protease, alfa-amilase e fitase.

Tabela 1 - Composição alimentar e nutricional das dietas experimentais

Ingredientes (Kg)	Ração Controle	Dieta com enzimas
Farelo de soja	45,520	45,520
Milho	32,940	32,940
Farinha de peixes	10,000	10,000
Farelo de trigo	6,000	6,000
Óleo de soja	3,480	3,480
Fosfato bicalcico	0,930	0,930
Sal comum	0,300	0,300
Suplemento mineral e vitamínico ¹	0,500	0,500
Vitamina C	0,006	0,006
BHT	0,020	0,020
Inerte	0,100	0,020
Fitase	-	0,020
Alfa-amilase	-	0,020
Protease	-	0,040
L-Lisina HCL	0,094	0,094
L-Treonina	0,040	0,040
DL-Metionina	0,073	0,073
	100,00	100,00
Composição nutricional (%)		
Matéria seca	85,640	85,640
Proteína Bruta (%)	30,000	30,000
Energia Bruta (Kcal/Kg)	3000	3000
Fibra bruta (%)	3,946	3,946
Fósforo total (%)	0,955	0,955
Cálcio	1,500	1,500
Metionina + cistina total	0,962	0,962
Metionina total	0,522	0,522
Treonina total	1,190	1,190

¹Níveis de garantia por quilograma do produto: Vit. A, 500.000UI; Vit. D3, 200.000UI; Vit. E, 5.000mg; Vit. K3, 1.000mg; Vit. B1, 1.500mg; Vit. B2, 1.500mg; Vit. B6, 1.500mg; Vit. B12, 4.000mg; Ác. Fólico, 500mg; Pantotenato Ca, 4.000mg; Vit. C, 15.000mg; Biotina, 50mg; Inositol, 10.000; Nicotinamida, 7.000; Cobre, 500mg; Fe, 5.000mg; I, 50mg; Mn, 1500mg; Se, 10mg; Zn, 5.000mg.

Para a confecção das rações, os ingredientes foram moídos em triturador tipo martelo; posteriormente, foi realizada a mistura dos ingredientes em misturador “Y”, e peletização. Após peletização, as rações foram novamente trituradas para atender ao diâmetro da boca dos guppys.

Dos parâmetros físico-químicos da água: o oxigênio dissolvido, pH e temperatura da água foi mensurados todos os dias durante o período experimental, com o auxílio de pHmetro (HANNA®) e Oxímetro/termômetro (ICEL®). O teor de amônia dissolvido na água foi avaliado uma vez por semana utilizando um kit colorimétrico comercial.

Ao final do experimento, os animais permaneceram em jejum por 15 horas para esvaziamento do trato digestório e posteriormente foram pesados e medidos para a obtenção do peso e medidas morfométricas.

Foram avaliados: o peso final; ganho de peso $= (\text{peso final}) - (\text{peso inicial})$; conversão alimentar $= (\text{consumo de ração}) \div (\text{ganho de peso})$; comprimento total final (medido do focinho ao final da nadadeira caudal); ganho em comprimento total; comprimento padrão (medido do focinho ao início da nadadeira caudal); ganho em comprimento padrão; altura final (medida à frente do 1º raio da nadadeira dorsal); largura final (medida à frente do 1º raio da nadadeira dorsal); taxa de crescimento específico $= [((\text{In peso final} - \text{In peso inicial}) \div \text{tempo}) \times 100]$; taxa de desenvolvimento específico $= [((\text{In comprimento total final} - \text{In comprimento total inicial}) \div \text{tempo}) \times 100]$; e fator de condição de Fulton $= [\text{peso final} / (\text{comprimento final})^3] \times 100$.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, e em caso de diferenças aplicou-se o teste de médias t de Student ($p > 0,05$).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores médios de oxigênio dissolvido, pH, temperatura e teor de amônia foram, respectivamente, $5,24 \pm 0,51 \text{ mg/L}$; $6,39 \pm 0,06$; $27,6 \pm 1,17 \text{ }^\circ\text{C}$; $0,63 \pm 0,43 \text{ ppm}$ permanecendo dentro da faixa aceitável para o bom desempenho da espécie (Lima, 2003). Não foram observadas mortes de peixes nas unidades experimentais.

Os peixes alimentados com ração contendo enzimas exógenas apresentaram maior peso final (0,205g) e ganho de peso (0,617g); Não houve diferença ($p < 0,05$) em relação ao consumo de ração (tabela 2). Os guppys alimentados com dietas contendo enzimas se mostraram mais eficientes em converter o alimento ingerido em produção de tecido, visto que, a conversão alimentar apresentou o melhor índice para os peixes alimentados com dietas contendo enzimas.

Tabela 2 – Desempenho de guppys alimentados com ração contendo ou não enzimas exógenas.

	Peso inicial(g)	Peso final(g)	Ganho de peso(g)	Consumo de ração(g)	Conversão Alimentar
Dieta controle	0,019 ^a	0,166 ^b	0,147 ^b	0,720 ^b	4,88 ^b
Dieta controle + enzimas	0,018 ^a	0,205 ^a	0,187 ^a	0,617 ^b	3,31 ^a
CV%	9,28	5,61	6,54	10,76	15,04

*Médias na mesma coluna seguidas de letras distintas diferem ($P < 0,05$) pelo teste t.

Em outros peixes onívoros, como a tilápia do Nilo, a inclusão de enzimas exógenas na forma de complexo enzimático também possibilitou melhores índices de conversão alimentar (Signor et al, 2010). Evidenciando que a inclusão de enzimas em doses adequadas promove maior disponibilidade de nutrientes que podem ser rapidamente absorvidos.

A fitase atua quebrando ligações de complexos naturais, o fitato. Visando baratear as rações, dietas comerciais para peixes onívoros contêm farelos de origem vegetal. Uma quantidade considerável do fósforo presente nestes ingredientes não está prontamente disponível, havendo a necessidade da inclusão de fitase com a finalidade de melhorar a absorção do fósforo, visto que, os peixes não produzem a enzima de forma endógena. A adição de fitase em dietas para juvenis de tambaqui favoreceu melhores índices de conversão alimentar e ganho de peso (Mendonça et al., 2012).

A inclusão de enzimas digestivas exógenas não influenciou ($p < 0,05$) o comprimento final, ganho em comprimento e largura final dos guppys; no entanto, os peixes alimentados com ração contendo enzimas apresentaram maior altura final do que os animais cuja dieta não recebeu suplementação (tabela 3).

A altura do corpo dos guppys pode indicar um fator importante de desenvolvimento, visto que, estes peixes são popularmente conhecidos também como “barrigudinhos” devido a característica de ventre abaulado presente nas fêmeas.

Tabela 3 – Parâmetros de crescimento em guppys alimentados com ração contendo ou não enzimas exógenas.

Dietas	Comprimento total Inicial (cm)	Comprimento Total Final (cm)	Ganho em comprimento (cm)	Largura final (cm)	Altura Final (cm)
Dieta controle	0,9	1,755 ^a	0,855 ^a	0,103 ^a	0,161 ^b
Dieta controle + enzimas	0,9	1,944 ^a	1,044 ^a	0,125 ^a	0,193 ^a
CV%	0,00	9,06	17,64	9,49	6,06

*Médias na mesma coluna seguidas de letras distintas diferem ($P < 0,05$) pelo teste t.

Para o peixe ornamental kiguio (*Carassius auratus*), a suplementação das rações com complexo enzimático (amilase, protease, celulase, lipase, β -glucanase e fitase), não foi eficiente em influenciar diferenças significativas para parâmetros de desempenho, como o comprimento total (Signor et al., 2013).

Os índices de taxa de crescimento específico e taxa de desenvolvimento específico foram influenciados positivamente ($p < 0,05$) pela inclusão de enzimas na dieta (tabela 4).

Tabela 4 – Taxas de crescimento, desenvolvimento e fator de condição de Fulton de guppys alimentados com ração contendo ou não enzimas exógenas.

	Taxa de crescimento (%/dia)	de desenvolvimento específico (%/dia)	Fator de condição corporal de Fulton
Dieta controle	6,22 ^b	1,74 ^b	2,55 ^b
Dieta controle + enzimas	7,20 ^a	2,20 ^a	2,81 ^a
CV%	3,81	10,73	13,68

*Médias na mesma coluna seguidas de letras distintas diferem ($P < 0,05$) pelo teste t.

Os maiores níveis para estes índices indicam que houve um ganho de peso e crescimento maiores em função do tempo do experimento nos guppys que receberam a dieta com adição de enzimas digestivas exógenas. Uma maior taxa de crescimento e desenvolvimento específicos pode indicar menor tempo de produção e, conseqüentemente retorno mais rápido do investimento.

O fator de condição corporal é utilizado para avaliar o bem-estar de peixes, é obtido através da relação entre peso e comprimento (Yamada et. al., 2008). O fator de condição de Fulton admite que a relação peso/comprimento é isométrica (igual a 3), por isso, para valores inferiores a 3 existe maior incremento em peso e, para valores superiores o maior incremento é devido ao comprimento (Rocha et al., 2005).

Os animais dos dois tratamentos apresentaram maior incremento em peso que comprimento, no entanto, os peixes guppys alimentados com rações contendo enzimas exógenas apresentaram valores mais próximos de 3 para o fator de condição corporal de Fulton ($P < 0,05$), indicando melhores condições de desenvolvimento e bem-estar.

4. CONCLUSÃO

Recomenda-se suplementar as rações com as enzimas exógenas protease, alfa-amilase e fitase, visto que, sua inclusão influenciou de maneira positiva o crescimento e desenvolvimento dos peixes ornamentais guppys.

5. AGRADECIMENTOS

A CAPES, a empresa DSM e a empresa Guaraves/Aquavita pelo fornecimento de recursos para a realização deste trabalho.

6. REFERÊNCIAS

BOOCK, M. V.; MACHADO NETO, J. G. Estudos sobre a toxicidade aguda do oxicloreto de cobre para o peixe *Poecilia reticulata*. **Boletim Instituto de Pesca, São Paulo**,(31), v. 1, p. 29-35, 2005.

CAVALCANTI, L. P. D. G., PONTES, R. J. S., REGAZZI, A. C. F., JÚNIOR, P., FRUTUOSO, R. L., SOUSA, E. P., DANTAS FILHO, F. F. E LIMA, J. W. D. O. Competência de peixes como predadores de larvas de *Aedes aegypti*, em condições de laboratório. **Revista de Saúde Pública**, 41(4), 638-644. 2007.

LIMA, A. O. Aquicultura Ornamental: O potencial de mercado para algumas espécies de peixes ornamentais. **Panorama da Aquicultura**. v. 13, n. 78, p:28 29, 2003.

MENDONÇA, P.P.; COSTA, P.C.; POLESE, M.F.; VIDAL JR, M.V.; ANDRADE, D.R. Efeito da suplementação de fitase na alimentação de juvenis de tambaqui (*Colossoma macropomum*). **Archivos de Zootecnia** 61 (235): 437-448. 2012.

MUNAKATA, A; KOBAYASHI, M. Endocrine control of sexual behavior in teleost fish. **General and Comparative Endocrinology**, v. 165, p. 456-468, 2010.

ROCHA, M. A. DA, AZAMBUJA RIBEIRO, E. L. DE, MIZUBUTI, I. Y., DA SILVA, L. D. D. F., BOROSKY, J. C., e RUBIN, K. C. P. Uso do fator de condição alométrico e de fulton na comparação de carpa (*Cyprinus carpio*), considerando os sexos e idade. **Semina: Ciências Agrárias**, 26(3), 429-434. 2005.

SANTOS, E. L., LIRA, R. C., SOUZA, C. A., DE SOUZA SANTOS, I. V. V., DA SILVA, F. C. B., ALBUQUERQUE, I. C. M. Desempenho de *Betta splendens* associados a

diferentes frequências alimentares. **Revista Científica de Produção Animal**, v. 16, n. 1, p. 10-16, 2014.

SANTOS, E.S., MOTA, S., SANTOS, A.B., AQUINO, M.D. Cultivo do peixe ornamental molinésia (*Poeciliasp.*) em esgotos domésticos tratados: desempenho zootécnico e avaliação do bem-estar animal. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 67(1), 255-264. 2015.

SIGNOR, A. A.; BOSCOLO, W. R.; BITTENCOURT, F.; FEIDEN, A.; GONÇALVES, G. S.; FREITAS, J. M. A. Desempenho de juvenis de Tilápia-do-nilo alimentados com rações contendo complexo enzimático. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.39, n.5, p.977-983, 2010.

SIGNOR, A.A.; LUCHESI, J.D.; COSTA, J.M.; FRIES, E.M.; ALTEVIR SIGNOR, A.; FEIDEN, A.; BOSCOLO, W.R. Complexo enzimático na dieta de alevinos de kinguio (*Carassius auratus*). **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 34, n. 3, p. 1381-1388, 2013.

SOUZA, F. de; TOZZO, R. A. *Poecilia reticulata* Peters 1859 (Cyprinodontiformes, Poeciliidae) como possível bioindicador de ambientes degradados. **Revista Meio Ambiente e Sustentabilidade**, v. 3, n. 2, p. 162-175, 2013.

WEINSTEIN, M.; ZIMMER, B. Guppy Speed Dating: Male Mate Preference in *Poecilia reticulata*. **Journal of Introductory Biology Investigations**, v. 2, n. 5, 2015.

YAMADA, F. H., TAKEMOTO, R. M., & PAVANELLI, G. C. Relação entre fator de condição relativo (Kn) e abundância de ectoparasitos de brânquias, em duas espécies de ciclídeos da bacia do rio Paraná, Brasil. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 30, n. 2, p. 213-217, 2008.

ZUANON, J. A. S., SALARO, A. L., & FURUYA, W. M. Produção e nutrição de peixes ornamentais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 40, p. 165-174, 2011.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A adição combinada de enzimas na forma de misturas ou *blends* enzimáticos mostrou ser uma ferramenta biotecnológica importante, ao contribuir para melhor absorção dos nutrientes das rações e possibilitou melhor desempenho de peixes mantidos em temperatura adequada, tanto para a produção de carne (tilápia do Nilo), quanto para atender a demanda do mercado pet (peixe ornamental guppy).

Para tilápias do Nilo em temperatura sub-ótima, ou seja, abaixo ou no limite mínimo da zona de conforto térmico e dietas com níveis decrescentes de energia e proteína, foi possível observar que a adição de enzimas digestivas supriu o déficit nutricional de até 2,64% (maior redução testada no ensaio) de energia e proteína da dieta. A eficiência digestiva das enzimas também pode ser evidenciada pelo maior comprimento padrão final e ganho em comprimento padrão das tilápias do Nilo alimentadas com a dieta sem redução nutricional e adição do *blend* enzimático quando comparadas às tilápias que receberam a dieta controle (sem redução nutricional e sem adição de enzimas).

A eficiência metabólica das misturas enzimáticas envolvendo a digestão e absorção de carboidratos e proteína pode ser avaliada, de forma indireta, através da análise dos produtos dessas reações pela obtenção da concentração de glicose sérica e a taxa de excreção de amônia, visto que, foi possível obter respostas diferentes de acordo com o *blend* enzimático adicionado.